

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE AGRONOMIA**

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CIÊNCIA DO SOLO**

**DISSERTAÇÃO**

**Microrganismos como Indicadores de Alteração  
do Uso do Solo em Sistema Integração Lavoura-  
Pecuária**

**Helen Botelho Marota**

**2014**



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

**MICROORGANISMOS COMO INDICADORES DE ALTERAÇÃO  
DO USO DO SOLO EM SISTEMA INTEGRAÇÃO LAVOURA-  
PECUÁRIA**

**HELEN BOTELHO MAROTA**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Ricardo Luis Louro Berbara**

*e Co-orientação do Professor*  
**Everaldo Zonta**

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

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2014

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M355m Marota, Helen Botelho, 1986-  
Microorganismos como indicadores de alteração do  
uso do solo em sistema integração lavoura-pecuária /  
Helen Botelho Marota. - 2014.  
28 f.: il.

Orientador: Ricardo Luis Louro Berbara.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, PPGA-CS, 2014.

1. Bioqímica do solo. Comunidade microbiana. Manejo  
do solo. I. Berbara, Ricardo Luis Louro, 1957-,  
orient. II Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. PPGA-CS 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**

**HELEN BOTELHO MAROTA**

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/02/2014.

---

Ricardo Luis Louro Berbara. Ph.D. UFRRJ

---

Ednaldo da Silva Araújo. Dr. Embrapa Agrobiologia

---

David Vilas Boas de Campos. Dr. Embrapa Solos

## DEDICATÓRIA

*Dedico a minha mãe, Maria Imaculada que contribuiu para minha formação pessoal e a todos que acreditam na importância desse trabalho de pesquisa voltado para a agricultura e o meio ambiente.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Ph.D. Ricardo Luis Louro Berbara pela orientação desse trabalho, pelas sugestões, cooperação, ensinamentos, por acreditar no meu potencial e me apoiar nas minhas decisões.

Ao Prof. Dr. Everaldo Zonta, por ter contribuído de maneira significativa no meu aprendizado, incentivando e apoiando desde a graduação.

Ao Pesquisador Ph.D. Marcelo Ferreira Fernandes, que gentilmente abriu as portas do Laboratório de Microbiologia do Solo na Embrapa Tabuleiros Costeiros e possibilitou a realização das análises microbiológicas auxiliando no possível.

A Pesquisadora Ph.D. Beata Mandari da Embrapa Arroz e Feijão, não só pelo suporte estrutural e financeiro nas viagens, mas pela oportunidade de poder cooperar por um projeto de tamanha importância.

Ao Prof. Dr. Mário Marcos do Espírito Santo, que gentilmente me cedeu uma bolsa da Capes SISBIOTA, e ao Projeto Tropi Dry financiado pelo Inter American Institute for Global Change Research (IAI) pelo apoio financeiro.

Ao Francy Lisboa por me ajudar com as análises microbiológicas e com as análises estatísticas, sem ele seria impossível concluir o trabalho.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, a Capes e a Embrapa por me possibilitarem cursar este mestrado.

À minha mãe Maria Imaculada que tanto se esforçou para que eu chegasse até aqui.

Aos colegas e funcionários do Laboratório de Fertilidade do Solo pela amizade e aprendizados partilhados.

Aos colegas do Laboratório de Biologia do Solo por me ajudarem e tirarem minhas dúvidas.

Ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia Ciência do Solo (CPGA-CS) e aos professores por constituir um espaço de saber e conhecimento em minha vida.

A todos que de alguma forma contribuíram para minha formação o meu muito obrigado!

## **BIOGRAFIA**

Helen Botelho Marota nasceu em Viçosa, na zona da mata do estado de Minas Gerais, no dia 28 de abril de 1986. Iniciou sua graduação em Agronomia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em outubro de 2006. Em 2008 iniciou um estágio no Laboratório de Fertilidade do solo, sob a orientação do professor Everaldo Zonta, onde foi bolsista e trabalhou com torta de mamona na adubação e com o cascalho contaminado com fluído de perfuração de poços de petróleo. Em 2011 Helen conhece o pesquisador da Embrapa Solos Dr. José Carlos Polidoro, onde foi bolsista atuando no desenvolvimento de novas tecnologias de fertilizantes. No final da graduação Helen conhece o professor da UFRRJ, Ricardo Luis Louro Berbara, e teve a oportunidade de trabalhar com arsênio em solos contaminados. Em 2012 ingressou no Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do solo sob a orientação do professor Dr. Ricardo Luis Louro Berbara e co-orientação do Professor Dr. Everaldo Zonta.

## RESUMO

Marota, Helen Botelho. **Microrganismos como indicadores de alteração do uso do solo em sistema integração lavoura-pecuária**. 2014. 28f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

Este trabalho teve como objetivo a caracterização quantitativa e estrutural da atividade dos microrganismos a partir da quantificação de fosfolípidos pela técnica de extração PLFA (*Phospholipid - Derived Fatty Acids*) em solo do bioma cerrado sob sistema integração lavoura-pecuária, determinando vínculos entre mudanças da cobertura com atividade e diversidade de microrganismos no solo. Estes valores foram relacionados com variáveis físicas e químicas do solo. No presente estudo foi avaliada área de Latossolo Vermelho Ácrico típico de textura argilosa sob uso em sistema de integração lavoura-pecuária, sendo coletadas amostras em pasto com um ano de formação, pasto com três anos de formação e floresta como referência. As coletas foram realizadas em março e agosto de 2013. Observou-se a análise de ordenação multivariada utilizando-se teste de permutação (baseado em 1000 permutações) e a análise de Componentes Principais com Respeito a Variáveis Instrumentais (PCAIV). A cobertura e o manejo exercido sobre o solo em sistema integração lavoura-pecuária influenciou a distribuição, estrutura e condições fisiológicas das populações microbianas do solo. A distribuição desses organismos foi maior nas áreas de pastagem em relação à área de floresta, onde ocorreu a predominância de organismos de hábito de sobrevivência oportunista em comparação com a área de floresta onde a presença predominante foi de organismos estrategistas. A diferença de tempo de implantação das pastagens não influenciou na estrutura da comunidade microbiana, pois a distribuição foi a mesma nas duas áreas estudadas. Índices de estresse foram maiores no sítio de floresta do que nos sítios de pastagem em ambas as épocas, provavelmente em função dos baixos níveis de fertilidade natural destes solos bem como da sua elevada acidez. Os dados de fertilidade do solo podem explicar a variação microbiana na estação chuvosa e seca. A matéria orgânica nos sítios de pastagem, independente do tempo de formação, é similar. Na floresta observa-se maior contraste com relação a disponibilidade de MO, o que pode explicar porque a heterogeneidade é mais marcante na floresta do que nos pastos.

**Palavras-chave:** Bioquímica do Solo. Comunidade Microbiana. Manejo do Solo.

## ABSTRACT

Marota, Helen Botelho. **Microorganisms as indicators of changes in soils use under crop-farming integration system**. 2014. 28p. Dissertation (Masters Science in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

The present work aimed the quantitative and structural characterization of microorganism activity by the quantification of phospholipids using the PLFA (Phospholipid - Derived Fatty Acids) technique in a soil from *Cerrado* biome under crop-farming system determining the relation between the changes in the tillage and the activity and diversity of microorganisms in the soil. These factors were related with physical and chemical soil variables. In this study, a typical acric Red Latosol with clayey texture under crop-farming integration was targeted, being samples collected from one year formation pasture, three years formation pasture and forest as reference. The sampling was performed on March and August 2013. Multivariate analysis using permutation test (based on 1000 permutations) and the Principal Component analysis regarding Instrumental Variables (PCAV) were used. The tillage and the management applied on the soil under crop-farming system affected the distribution, the structure and the physiological conditions of the microbial population in the soil. The distribution of these organisms was higher in pasture areas comparing to forest area, where organisms presenting opportunistic habit were predominant in contrast to forest area where the dominant presence was of strategist organisms. The difference in the time of pasture introduction has not influenced the structure of the microbial community, once that the distribution was the same in both studied areas. The stress index were higher in forest site than in pasture sites in both periods, probably due to the naturally low fertility level of this soil as much as its high acidity. The soil fertility data could explain the microbial variation under rainy and dry seasons. The organic matter in pasture sites was similar independent of the formation time. In the forest area, there is a higher contrast regarding the organic matter availability, which can explain the high heterogeneity on this area comparing to pasture areas.

**Keywords:** Soil Biochemistry. Microbial Community. Soil Management.

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Imagem aérea da área utilizada para o estudo e coordenadas geográficas. Creche 4: pasto com três anos de formação; Creche 5: pasto com um ano de formação; F: Área florestal preservada. Fonte: Google Mapas. .... 7
- Figura 2.** Croqui de coleta das amostras de solo na Fazenda Capivara na Embrapa Arroz e Feijão. A: esquema representativo da área total de amostragem; B: esquema representativo da distribuição dos pontos de coleta em cada subárea destinada à amostragem. .... 9
- Figura 3.** Alterações na estrutura da comunidade microbiana do solo em período chuvoso em função do manejo e tipo de cobertura vegetal (1: pasto com um ano; 3: pasto com três anos; 4: floresta ), de acordo com a Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando-se teste de permutação baseado em 1000 permutações. O pacote estatístico utilizado é o “ade4” (Thioulouse et al. (1997), [http:// pbil.univlyon1.fr/ADE-4/](http://pbil.univlyon1.fr/ADE-4/)) disponível para R (R Core Development Team, 2011). O valor observado é dado pela linha vertical, à direita do histograma. A estrutura da comunidade microbiana foi investigada pela técnica de ácidos graxos de fosfolipídios semelhante à técnica descrita por Frostegard et al. (1991). Os pontos representam a posição média das amostras sob cada cobertura vegetal. .... 13
- Figura 4.** Alterações na estrutura da comunidade microbiana do solo em período seco em função do manejo e tipo de cobertura vegetal (1: pasto com um ano; 3: pasto com três anos; 4: floresta ), de acordo com a Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando-se teste de permutação baseado em 1000 permutações. O pacote estatístico utilizado é o “ade4” (Thioulouse et al. (1997), [http:// pbil.univlyon1.fr/ADE-4/](http://pbil.univlyon1.fr/ADE-4/)) disponível para R (R Core Development Team, 2011). O valor observado é dado pela linha vertical, à direita do histograma. A estrutura da comunidade microbiana foi investigada pela técnica de ácidos graxos de fosfolipídios semelhante à técnica descrita por Frostegard et al. (1991). Os pontos representam a posição média das amostras sob cada cobertura vegetal. .... 14
- Figura 5.** Distribuição da comunidade microbiana do solo em período chuvoso, Fungo Micorrízico Arbuscular (FMA); Fungo; Bactérias Gram(+); Bactérias Gram (-); Actinomicetos em função do manejo e tipo de cobertura vegetal (F: floresta; P1: pasto com um ano; P3: pasto com três anos. Além da condição em que os organismos se encontram (ST 17; ST 19). De acordo com análise de Componentes Principais: Variáveis são simbolizadas por setas. A escala do gráfico é dado por uma grade, o tamanho é dado no canto superior direito. O comprimento da parte lateral do lado de quadrículas, é igual a um. O gráfico de autovalores é desenhado no canto superior esquerdo, com as duas barras pretas correspondentes aos dois eixos usados para desenhar o biplot. Barras cinza correspondem aos eixos que foram mantidos na análise, mas não é usado para desenhar o gráfico. .... 15
- Figura 6.** Distribuição da comunidade microbiana do solo em período seco, Fungo Micorrízico Arbuscular (FMA); Fungo; Bactérias Gram(+); Bactérias Gram (-); Actinomicetos em função do tipo de cobertura vegetal (F: floresta; P1: pasto com um ano; P3: pasto com três anos. Além da condição em que os organismos se encontram (ST17; ST19). De acordo com análise de Componentes Principais: Variáveis são simbolizadas por setas. A escala do gráfico é dado por uma grade, o tamanho é dado no canto superior direito. O comprimento da parte lateral do lado de quadrículas, é igual a um. O gráfico de autovalores é desenhado no canto superior esquerdo, com as duas barras pretas correspondentes aos dois eixos usados para desenhar o biplot. Barras cinza correspondem aos eixos que foram mantidos na análise, mas não é usado para desenhar o gráfico. .... 16
- Figura 7.** Diagrama produzido pela análise de correspondência canônica (CCA, Ter Braak, 1986) e Análise de Componentes Principais com Respeito a Variáveis Instrumentais (PCAIV, Rao, 1964). As variáveis instrumentais são: MO (matéria orgânica); DS (densidade do solo); pH (potencial de hidrogênio); N (nitrogênio); P (fósforo); Ca (cálcio) e Mg (magnésio). .... 17
- Figura 8.** Diagrama produzido pela análise de correspondência canônica (CCA, Ter Braak, 1986) e Análise de Componentes Principais com Respeito a Variáveis Instrumentais (PCAIV, Rao, 1964). As variáveis instrumentais são: MO (matéria orgânica); DS (densidade do solo); pH (potencial de hidrogênio); N (nitrogênio); P (fósforo); Ca (cálcio) e Mg (magnésio). .... 19

## ÍNDICE DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1.</b> Principais ácidos graxos utilizados como biomarcadores para diferentes grupos microbianos..... | 5  |
| <b>Tabela 2.</b> Histórico de uso da creche 4 e 5.....  | 8  |
| <b>Tabela 3.</b> Valores médios das variáveis químicas e físicas do solo. ....                                  | 11 |
| <b>Tabela 4.</b> Correlação entre eixos e variáveis de solo “PCAIV” época chuvosa.....                          | 17 |
| <b>Tabela 5.</b> Correlação entre eixos e variáveis de solo “PCAIV” época seca. ....                            | 19 |

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....   | 1  |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA .....                                    | 2  |
| 2.1. Qualidade do Solo Afetado Pela Mudança de Uso da Terra ..... | 2  |
| 2.2. O Cerrado e o Sistema Integração Lavoura-Pecuária .....      | 3  |
| 2.3. Microrganismos Como Indicadores da Qualidade do Solo .....   | 4  |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS .....                                       | 7  |
| 3.1. Localização.....   | 7  |
| 3.2. Delineamento Experimental e Amostragem.....                  | 8  |
| 3.3. Análise de Ácidos Graxos de Fosfolipídios (PLFA) .....       | 9  |
| 3.4. Extração de Lipídeos Totais do Solo .....                    | 9  |
| 3.5. Separação de Lipídeos .....                                  | 9  |
| 3.6. Metilação Alcalina Branda.....                               | 10 |
| 3.7. Análises do Solo .....                                       | 10 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                   | 12 |
| 5. CONCLUSÕES .....   | 20 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                               | 21 |

## 1. INTRODUÇÃO

O bioma Cerrado, por possuir amplas áreas sob uso agropecuário, é importante na produção de alimentos, fibras e agroenergia para população mundial. A transformação de ambientes naturais em sistemas agrícolas tem provocado degradação de extensas áreas, em consequência de sua exploração inadequada.

Para atender a demanda crescente por alimentos e por bioenergia, sem comprometer a sustentabilidade dos ecossistemas, é necessário desenvolver sistemas de produção mais eficientes no uso dos recursos naturais do Cerrado. Para tanto, justifica-se estudos que permitam detectar a qualidade dos manejos empregados nesses processos.

Há grande necessidade para a caracterização desses sistemas de um ponto de vista de qualidade ambiental e sócio econômico. A avaliação dos sistemas também traz vantagem para o setor produtivo, pois possibilita a integração dos sistemas de produção em programas de certificação ambiental e, conseqüentemente, num maior segmento do mercado nacional e internacional.

Mudanças na diversidade florística (com modificações nos níveis e qualidade da matéria orgânica do solo) influenciam o tamanho, estrutura e condições fisiológicas das populações microbianas do solo. A hipótese do trabalho é de que a comunidade microbiana é alterada pela cobertura e manejo exercido sobre o solo.

Este trabalho tem como objetivo avaliar o impacto do manejo exercido sob as comunidades microbianas em solo do bioma Cerrado sob sistema integração lavoura-pecuária, considerado como um dos pilares para a agropecuária sustentável, determinando vínculos entre mudanças da cobertura com atividade, diversidade e distribuição dos grupos microbianos do solo a partir da caracterização qualitativa dos microrganismos pela quantificação de fosfolípidos através da técnica de extração PLFA (Phospholipid - Derived Fatty Acids), além disso, estes valores serão relacionados com variáveis físicas e químicas do solo com a finalidade de verificar a influência das mesmas na atividade, diversidade e distribuição da microbiota do solo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Qualidade do Solo Afetado Pela Mudança de Uso da Terra

A emissão de gases de efeito estufa, a escassez de água, alimentos, energia e a degradação dos solos estão entre as principais questões sobre a sustentabilidade da humanidade. Grande parte da solução para essas questões dependem do manejo sustentável dos solos (LAL, 2007).

A mudança do clima causada por atividades antrópicas pode afetar a produção agrícola e, conseqüentemente, o agronegócio e também a produção familiar. Assim, trata-se de um fenômeno que deve ser considerado em decisões estratégicas, especialmente em regiões cuja economia tenha forte aderência à agropecuária. Além de a mudança climática afetar a produção agrícola, a agricultura em diferentes modalidades e a pecuária são vistas como uma das principais causadoras do aquecimento global pela mudança no uso da terra, principalmente desmatamento com queima e posterior manejo não conservacionista gerando degradação das terras com mais emissão de gases de efeito estufa.

Devido à emissão de gases, o interesse no estudo do comportamento dos solos quanto à sua capacidade de armazenar ou perder C, nas diversas condições de manejo existentes é grande. Segundo Duxbury et al. (1989), Feigl et al. (1990) e Houghton (1995) citado por Corazza et al. (1999), a substituição de ecossistemas naturais por agroecossistemas com culturas introduzidas causa a redução no conteúdo e alteração na qualidade de C do solo.

Agroecossistemas têm o potencial de desempenhar um papel importante na mitigação das emissões de gases de efeito estufa de atividades antrópicas e, conseqüentemente, das alterações climáticas globais. Nestes sistemas, o CO<sub>2</sub> é sequestrado pela vegetação e pelo solo. O C orgânico do solo representa o maior reservatório de C terrestre e interage com a atmosfera e com a vegetação e organismos vivos em geral, uma vez que os fluxos de C entre a atmosfera e o solo podem ser positivos ou negativos, dependendo da cobertura e do seu manejo.

De acordo com Houghton (1995), o desmatamento e os cultivos de áreas de pastagens naturais estão entre as principais causas de emissão de gases que contribuem para o efeito estufa. Segundo Lal et al. (1995), a magnitude da emissão e o tipo de gases que causam o efeito estufa, a partir dos processos de degradação do solo, dependem do uso da terra, sistemas de cultivo e manejo do solo. O manejo do solo afeta a dinâmica do C e a emissão de gases por meio da sua influência nos processos e propriedades do solo, dentre estes se destacam os regimes térmicos, hídricos e de agregação.

Em solos com vegetação natural, os recursos biológicos resultam de processos de adaptação às condições ambientais refletindo os mecanismos de evolução do ecossistema como um todo. Com as modificações impostas pela agricultura, a fauna e os microrganismos, em diferentes graus de intensidade, são afetados pelos impactos provocados pelas práticas agrícolas (FILSER et al., 1995; REDDY et al., 1995; CURRY et al., 1995). Os organismos do solo são afetados pela compactação e seus efeitos na porosidade, na circulação de água e de ar e na mobilidade dos organismos no espaço poroso; pela diminuição na qualidade e da quantidade de material orgânico que constitui fonte energética desses organismos; pelas mudanças bruscas nas condições pedoclimáticas como estresse hídrico prolongado, inundação, fogo, congelamento, dentre outros Vargas & Hungria (1997).

Maior atenção deve ser voltada ao manejo da matéria orgânica do solo (MOS), a qual é considerada essencial, por atuar em aspectos de natureza química, física e biológica. O

incremento da matéria orgânica do solo no sistema de produção apresenta impactos positivos na melhoria da qualidade do solo (CONCEIÇÃO et al., 2005).

A qualidade da MOS e o C estão entre os indicadores da qualidade do solo que têm a maior relevância devido à sua importância na formação e manutenção das funções do solo, especialmente em solos altamente intemperizados. É um fato bem conhecido que no cerrado a fertilidade e qualidade do solo dependem fundamentalmente da quantidade e qualidade da MOS. Se manejada adequadamente a matéria orgânica do solo pode desempenhar um papel importante, em logo prazo, no armazenamento e sequestro de C pelo solo (SISTI et al., 2004; MADARI et al., 2005; BARRETO et al., 2009).

Para que o estoque de MO do solo se estabilize ou acumule, os sistemas de manejo de solo e de culturas adotados devem preconizar adições de MO em maior quantidade do que as perdas por decomposição. Dependendo do manejo aplicado, pode ocorrer equilíbrio com recuperação e até mesmo acumulação, o que seria vantajoso, do ponto de vista da diminuição do CO<sub>2</sub> da atmosfera, reduzindo-se o efeito estufa e os impactos da atividade agrícola no ambiente (SIQUEIRA, 1993; LAL et al., 1995).

Em muitos solos e ecossistemas não perturbados, assume-se a existência de um estado de equilíbrio, sendo que a quantidade de C fixada anualmente pela fotossíntese é contrabalanceada por quantidade similar de C liberada para a atmosfera na forma de CO<sub>2</sub> pela respiração da biota e das raízes. Parte do C persiste no solo por poucas semanas, enquanto parte dele pode permanecer por centenas de anos. A biota do solo converte os resíduos orgânicos em húmus, o qual é resistente à rápida oxidação devido sua associação com argilas no solo (VARGAS & HUNGRIA, 1997).

O equilíbrio positivo entre a entrada e a saída de carbono em solos agricultáveis passa pela implementação de sistemas de produção fundamentados em princípios da agricultura conservacionista, pois o manejo adotado visa à manutenção permanente da cobertura do solo, que contribui para o incremento do conteúdo de carbono orgânico, para a reciclagem de nutrientes, a fixação simbiótica de nitrogênio, a retenção e a infiltração de água no solo, para a redução do escoamento superficial e o eficiente controle da erosão hídrica, fatores estes que resultam na melhoria da qualidade ambiental e na preservação dos recursos naturais (BAYER & MIELNICZUK, 1997; DEBARBA & AMADO, 1997; AMADO et al., 2000; SPAGNOLLO, 2000; SANTOS et al., 2003; LOVATO et al., 2004; CERRI et al., 2007). Sistemas envolvendo pastagens perenes também têm sido apontados como recuperadores do teor de carbono do solo, principalmente, nas regiões Centro-Oeste e Amazônica brasileiras (FEIGL et al., 1995; CORAZZA, et al., 1999; JANTALIA et al., 2006).

Entretanto, apesar do acima exposto, a falta de conhecimento sobre a diversidade e dinâmica de comunidades microbianas do solo dificulta a compreensão da forma como o manejo do solo, afeta as emissões de gases de efeito estufa. Por exemplo, o aumento da biomassa de fungos em relação à da bacteriana é típico de solos superficiais manejados com práticas conservacionistas (BAILEY et al., 2002), com reflexos significativos na preservação do C no solo.

Assim como o solo e a biota são considerados os principais reservatórios de C, a preservação desses reservatórios é de grande importância para o equilíbrio da concentração do gás carbônico na atmosfera.

## **2.2. O Cerrado e o Sistema Integração Lavoura-Pecuária**

O Cerrado é a segunda maior formação vegetal brasileira, depois da Amazônia. Concentra um terço da biodiversidade nacional e 5 % da flora e da fauna mundiais (Faleiro et al., 2008). Ocupa uma área de 204,7 milhões de hectares, sendo cerca de 24 % da superfície do Brasil (MUELLER & MARTHA JÚNIOR, 2008). No Bioma Cerrado, há 80 milhões de

hectares, sob diferentes usos da terra, o que corresponde 39,5 % da sua área total. As duas classes de uso da terra mais representativas no uso da terra são as pastagens, com 26,5 %, e as áreas agrícolas com 10,5 % (Sano et al., 2008).

A exploração do bioma Cerrado, que sempre se baseou no cultivo intensivo e monocultor de grãos ou na criação de gado, está aos poucos se transformando num modelo produtivo mais forte, sustentável e assim, mais competitivo (FONSECA ET AL., 2007). Alguns sistemas de manejo são ditos como promotores da qualidade do solo, como são descritos por Goedert & Oliveira (2007).

Esses sistemas consistem na implantação de diferentes sistemas produtivos de grãos, fibras, carne, leite, agroenergia e outros, na mesma área, em plantio consorciado, seqüencial ou rotacionado. Dentro da fazenda, o uso da terra é alternado, no tempo e no espaço, entre lavoura e pecuária. E é no potencial sinérgico entre os componentes pastagem e lavoura que residem muitos dos benefícios da integração lavoura-pecuária (VILELA et al., 2008).

A integração pode ser feita pelo consórcio, sucessão ou ainda rotação de culturas anuais com forrageiras. Os objetivos da integração também são variados. Na atividade pecuária eles vão desde a recuperação de pastagens degradadas, a manutenção de altas produtividades das pastagens e, principalmente, a produção forrageira na entressafra. Na exploração lavoureira objetiva-se a quebra do ciclo das pragas, doenças e plantas daninhas, redução, via supressão física ou alelopática, de doenças das plantas cultivadas com origem no solo, melhoria na conservação de água, redução na flutuação de temperatura no solo e a possibilidade de agregar valores ao sistema (KLUTHCOUSKI & YOKOYAMA, 2003).

A pecuária proporciona à lavoura palha, oriunda da pastagem dessecada, que soluciona um dos problemas da agricultura sob Plantio Direto no cerrado. As pastagens deixam quantidades significativas de palha na superfície e de raízes no perfil do solo. Quanto aos benefícios que a lavoura promove para a pecuária, estão o aproveitamento da adubação residual da lavoura, produção de forragem de melhor qualidade, recuperação da produtividade da pastagem, menor custo de implantação de uma pastagem, aumento da produtividade de leite e carne e ganho de peso de animais, mesmo na época mais seca (TRECENZI et al., 2008).

Essa integração é uma boa opção tanto na busca de pastagens com suporte adequado para animais, como para a manutenção da atividade agrícola no solo, com maior sustentabilidade, permitindo manter a qualidade do solo. Neste sentido o sistema de integração lavoura-pecuária, tem grande potencial e vêm sendo proposto como alternativa ecologicamente sustentável de exploração das regiões tropicais (ALTIERI, 1995).

### **2.3. Microrganismos Como Indicadores da Qualidade do Solo**

Segundo Menezes & Reis Junior (2004), grande importância deve ser dada ao componente biológico do solo, já que esse apresenta estreita relação com os componentes físicos e químicos do solo.

Os microrganismos do solo desempenham papel fundamental na gênese do solo e atuam como reguladores de nutrientes, pela humificação da MO e ciclagem dos elementos, atuando, portanto, como fonte e dreno de nutrientes para o crescimento das plantas. Também chamados coletivamente de microbiota, são representados por cinco grandes grupos: bactérias, actinomicetos, fungos, algas e protozoários. Apesar de constituírem somente 1 a 4 % do carbono total e ocuparem menos de 5 % do espaço poroso do solo, a diversidade e a quantidade dos microrganismos é bastante elevada. Os componentes microbianos vivos do solo são também denominados de biomassa microbiana e as bactérias e fungos respondem por cerca de 90% da atividade microbiana do solo (ANDREOLA & FERNANDES, 2007).

Por ser a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo e por atuar em importantes processos biogeoquímicos, vários estudos mostram que os indicadores biológicos mostram-se mais sensíveis a qualquer alteração do uso e manejo do solo que indicadores físicos e químicos (DORAN, 1980; DICK, 1994; TRASAR-CÈPEDA et al., 1998; MATSUOKA et al., 2003, citado por MENDES & REIS JUNIOR 2004).

De acordo com Tótola & Chaer (2002), há grande dificuldade de interpretar os valores obtidos pelos indicadores biológicos de qualidade, diferente do que ocorre com outros indicadores físicos e químicos de qualidade. Isto porque os valores podem variar de acordo com o tipo de solo, manejo adotado e condições climáticas da região.

Os primeiros estudos sobre a função e a composição das comunidades microbianas em amostras ambientais baseavam-se no isolamento e na caracterização de membros cultiváveis. Porém esse método não permitia a adequada representação da comunidade microbiana total, além de ser um procedimento muito trabalhoso, e apenas uma reduzida subamostra dos organismos serem efetivamente investigadas nestes estudos (CHAER & FERNANDES, 2010).

O C da biomassa microbiana, apesar de amplamente utilizado como indicador de qualidade do solo, não fornece informações sobre mudanças estruturais nas comunidades microbianas investigadas (HARRIS, 2003). Alternativas de investigação de comunidades microbianas, as quais independem de isolamento e cultivo, têm sido propostas para contornar esses problemas, por exemplo, as metodologias que utilizam marcadores genéticos. Dentre estas, as mais utilizadas são baseadas em análises de polimorfismo de regiões do DNA amplificadas pela reação em cadeia da polimerase (PCR do inglês *Polimerase Chain Reaction*) (MULLIS, 1986). A limitação desse método é o não fornecimento de informações capazes de determinar diretamente a composição da comunidade microbiana, sendo necessárias etapas adicionais de clonagem, sequenciamento, e comparação com banco de dados para atingir o propósito. Além disso as técnicas baseadas na PCR não são capazes de fornecer, simultaneamente, informação para mais de um grupo microbiano.

Outra alternativa independente de isolamento e cultivo e que supera as limitações das técnicas baseadas na PCR são as técnicas baseadas em marcadores bioquímicos, como exemplo, a Análise de Ácidos Graxos Derivados de Fosfolipídios (PLFA do inglês *Phospholipids Fatty Acid*) (WHITE, 1996). Apesar de ser criticada por muitos autores por ser um processo caro e perder em poder de resolução em relação às técnicas baseadas na caracterização genética, a abordagem PLFA exhibe vantagens para a caracterização quantitativa, estrutural, e funcional da comunidade microbiana do solo.

Segundo Chaer e Fernandes (2010) a utilização dos perfis de ácidos graxos é baseada no fato de alguns grupos microbianos serem enriquecidos em tipos químicos específicos destes compostos, podendo ser empregados como biomarcadores destes grupos.

A Tabela 1 abaixo apresenta biomarcadores de grupos taxonômicos como fungos, bactérias gram-negativas, bactérias gram-positivas e actinomicetos.

**Tabela 1.** Principais ácidos graxos utilizados como biomarcadores para diferentes grupos microbianos.

| Grupo Microbiano | Biomarcadores FAME*                | Referências   |
|------------------|------------------------------------|---|
| Fungos           | 18:2 $\omega$ 6c                   | Federle, 1986; Frostegård and Bååth, 1996; Olsson, 1999 |
| Bactérias Gram+  | 15:0i; 15:0a; 16:0i; 17:0i; 17:0a  | O’Leary and Wilkinson, 1988                             |
| Bactérias Gram-  | 18:1 $\omega$ 7c; 17:0 cy; 19:0 cy | Wilkinson, 1988   |

|                              |                                    |   |
|------------------------------|------------------------------------|---|
| Actinomicetos                | 10-Me 16:0; 10-Me 17:0; 10-Me 18:0 | Kroppenstedt, 1992                              |
| Fungo Micorrízico Arbuscular | 16:1 $\omega$ 5c                   | Olsson et al., 1995; van Aarle and Olsson, 2003 |

\* FAME = Fatty Acid Methyl Ester.

De acordo com o protocolo elaborado por Chaer e Fernandes (2010) os ácidos graxos (FAME - *Fatty Acid Methyl Ester*) são designados pelo número total de átomos de carbono, pelo número de duplas ligações, com a posição da dupla ligação indicada a partir do metil terminal ( $\omega$ ) da molécula. A configuração da dupla ligação é indicada como *cis* (c) ou *trans* (t). Ácidos graxos ramificados são designados como *iso* (i) ou *anteiso* (a) ou pela posição do grupo metil a partir do terminal carboxílico da molécula. Ácidos graxos ciclopropílicos são designados pelo número total de átomos de carbono acompanhado do prefixo “cy”.

Os ácidos graxos são biomarcadores taxonômicos, mas alguns são típicos de determinados grupos funcionais, o que permite o uso da técnica para monitorar alterações em populações microbianas envolvidas em alguns processos específicos.

Os glicolipídios e os fosfolipídios são constituintes universais e majoritários das membranas celulares, sendo, a classe de lipídios mais empregada nos estudos de comunidades microbianas. E em função da rápida ciclagem dos fosfolipídios após a morte celular, a composição de ácidos graxos nesta classe de lipídios é considerada um indicador da composição da microbiota viável presente nas amostras de solo (KING et al., 1977; WHITE et al., 1979, citado por CHAER & FERNANDES, 2010).

A metanólise alcalina branda é um dos mecanismos mais frequentemente utilizados para converter ácidos graxos de lipídios microbianos em FAMES é uma reação de transesterificação em uma única etapa, catalizada por um álcali na presença de metanol, eficiente principalmente para a formação de FAMES a partir de lipídios com ligações éster (KATES, 1986).

Esta técnica permite a determinação simultânea de variáveis relacionadas à biomassa, composição e estado fisiológico das comunidades microbianas do solo (GUCKERT et al., 1986, JACKSON et al., 2003, FERNANDES, 2006 e CHAER et al., 2009).

A principal vantagem do método de PLFA é a inclusão apenas de ácidos graxos derivados de células viáveis, já que a ciclagem dos fosfolipídios após morte celular é muito rápida. Além disto, este fracionamento reduz a possibilidade de extração de ácidos graxos derivados de fontes não-microbianas (KING et al., 1977; WHITE et al., 1979).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Localização

Foi escolhida uma área sob sistema integração lavoura-pecuária localizada na Fazenda Capivara (16° 29'S / 49° 17'O), Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia GO-462, Km 12 Zona Rural município de Santo Antônio de Goiás-GO, sendo coletadas amostras em pasto com um ano de formação, pasto com três anos de formação e floresta como referência. As coletas foram realizadas em março e agosto de 2013, em área de solo Latossolo Vermelho Ácrico típico de textura argilosa.



**Figura 1.** Imagem aérea da área utilizada para o estudo e coordenadas geográficas. Creche 4: pasto com três anos de formação; Creche 5: pasto com um ano de formação; F: Área florestal preservada. Fonte: Google Mapas.

Houve uma grande transformação da área desde o início da sua exploração como pode ser observado na Tabela 2. Após o desmatamento, as áreas foram utilizadas basicamente para a produção de cereais e grãos com o cultivo tradicional. Depois de um longo período nessa forma de cultivo as áreas transitaram para um modelo produtivo mais sustentável com a integração lavoura-pecuária, onde o uso da terra foi alternado no tempo e no espaço entre a produção de grãos e pastagem.

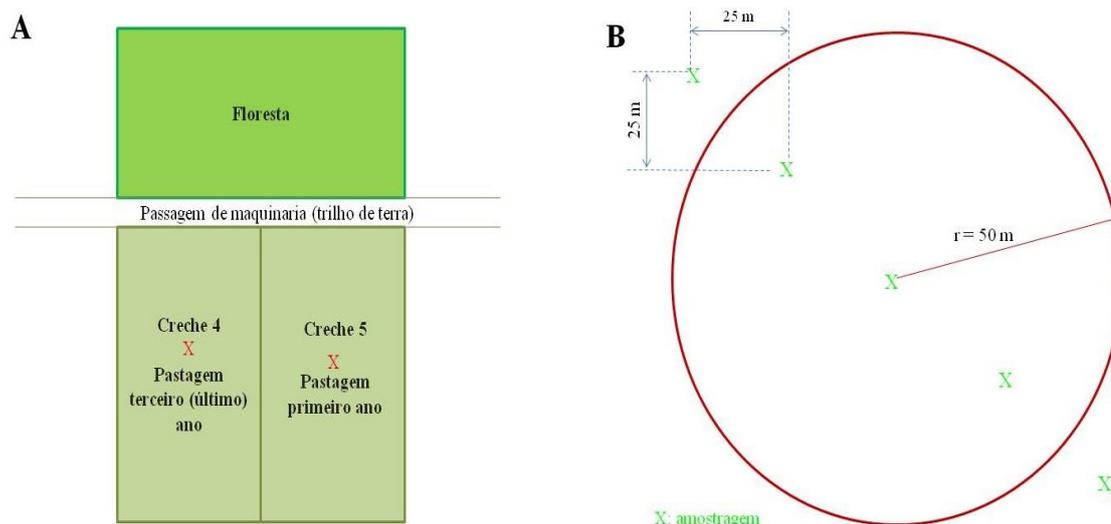
**Tabela 2.** Histórico de uso da creche 4 e 5.

|           | <b>Creche 4</b>  | <b>Creche 5</b>  |
|-----------|--|--|
| Até 1933  | Floresta nativa (cerradão)                                     | Floresta nativa (cerradão)   |
| 1933-1950 | Extração seletiva de madeira                                   | Extração seletiva de madeira   |
| 1950-1975 | Desmatamento   | Desmatamento   |
| 1975-1983 | Milho, feijão e arroz aeróbico em cultivo tradicional          | Milho, feijão, arroz aeróbico em cultivo tradicional                     |
| 1984-1992 | Milho e feijão em cultivo tradicional                          | Milho, feijão em cultivo tradicional                                     |
| 1993-1994 | Soja e braquiária em cultivo tradicional                       | Soja e braquiária em cultivo tradicional                                 |
| 1994-2003 | Transição para integração lavoura - pecuária                   | Transição para integração lavoura -pecuária                              |
| 2003-2010 | Soja, milho, arroz, braquiária ( <i>U. brizantha</i> ) e milho | Soja, feijão irrigado, milho, braquiária ( <i>U. brizantha</i> ) e arroz |
| 2010-2012 | Pastagem braquiária ( <i>U. ruziziensis</i> )                  | Soja e arroz   |
| 2012-2013 | Pastagem braquiária ( <i>U. ruziziensis</i> )                  | Pastagem braquiária ( <i>U. brizantha</i> )                              |
| 2013-2014 | Soja e arroz   | Pastagem braquiária ( <i>U. brizantha</i> )                              |

A parte do estudo referente às análises químicas e físicas do solo foi conduzida no Laboratório de Biologia do Solo do Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada na BR 465, Km 47, no município de Seropédica estado do Rio de Janeiro. A outra parte do estudo, referente às análises de ácidos graxos foi realizada no Laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizada no município de Aracajú estado de Sergipe.

### 3.2. Delineamento Experimental e Amostragem

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento em áreas de 25 x 25 metros. As coletas de amostras de solo foram realizadas em março (período chuvoso) e Agosto (período seco) de 2013 nas profundidades de 0-10, 10-20 20-40 cm sendo que cada amostra é composta por 10 amostras simples. Para as análises de PLFA, matéria orgânica total e nutrientes total do solo 10 cm foi limite de profundidade utilizado, definido em função da camada superior do solo ser o local onde se concentra a maior atividade biológica e ser a camada mais afetada pela retirada da vegetação nativa e pelas práticas de manejo do solo. Acrescenta-se, ainda, o fato de grande parte do carbono orgânico nos solos com horizonte A do tipo fraco e moderado, comumente verificado na paisagem estudada, se concentrar nas camadas superiores do solo acima desse limite conforme se constatou nos levantamentos de solos da região. Para a casualização da amostragem foi usado procedimento semelhante ao adotado por Corrêa (2007). A Figura 2 apresenta o esquema utilizado na amostragem.



**Figura 2.** Croqui de coleta das amostras de solo na Fazenda Capivara na Embrapa Arroz e Feijão. A: esquema representativo da área total de amostragem; B: esquema representativo da distribuição dos pontos de coleta em cada subárea destinada à amostragem.

### 3.3. Análise de Ácidos Graxos de Fosfolipídios (PLFA)

Dentre os protocolos baseados na análise de ácidos graxos, o do PLFA é o mais comumente utilizado em estudos de ecologia microbiana. Este método consiste em três etapas principais: a extração dos lipídios totais do solo, o fracionamento do extrato em classes de lipídios neutros, glicolipídios e fosfolipídios, e a produção de FAMES a partir da fração fosfolipídios por metilação alcalina branda. Os procedimentos de extração foram semelhantes aos descritos por Frostegard et al. (1991).

### 3.4. Extração de Lipídeos Totais do Solo

Os lipídios totais do solo foram extraídos sob agitação com uma mistura monofásica de metanol, clorofórmio e tampão fosfato 50 mM, nas proporções de 2:1:0,8 (BLIGH; DYER, 1959). Pesou-se 3g de solo em tubo de centrífuga e adicionou-se água deionizada suficiente para trazer a umidade de solo a 50% e a mesma quantidade de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) e o clorofórmio e metanol foram adicionados de acordo com a relação acima. Os tubos foram agitados durante a noite e posteriormente centrifugados por 12 minutos a 3600rpm. O sobrenadante foi vertido em filtro whatman previamente dispostos em funis de vidro e erlenmeyer de 50 ml. Foram adicionados clorofórmio e metanol aos tubos e estes centrifugados novamente por 6 minutos, essa operação foi repetida por mais duas vezes. Em seguida foi adicionado NaCl 2M equivalente ao volume total de clorofórmio adicionado para separar as fases orgânicas e aquosa e a recuperação desta primeira fase, na qual se encontram os lipídios totais do solo. A fase do clorofórmio foi transferida para tubos de ensaio e secos sob N<sub>2</sub> ultrapuro (99,9%).

### 3.5. Separação de Lipídeos

O extrato de lipídios totais de solo foi fracionado por cromatografia de adsorção em coluna de sílica nas frações neutra, glicolipídica e fosfolipídica, após eluição com clorofórmio, acetona e metanol, respectivamente. Foi adicionado às colunas de sílica 2 ml de clorofórmio para acondicionamento das colunas.

Em seguida foram adicionados os lipídios secos às colunas, dissolvidos por três vezes em alíquotas de 0,5 ml de clorofórmio. Logo após foi adicionado três vezes 2 ml de clorofórmio para separação dos lipídios neutros e adicionado também três vezes de 2 ml de acetona para separar os glicolipídeos. Os volumes acumulados de clorofórmio e acetona para eluição das colunas foram descartados. E por último foi adicionado três vezes 2 ml de metanol para separar os fosfolipídios e em seguida secos sob N<sub>2</sub> ultrapuro.

### 3.6. Metilação Alcalina Branda

Os fosfolipídios foram submetidos à reação de formação de FAMES para análise cromatográfica. De modo geral, a reação empregada para esta etapa é a metanólise alcalina branda. Os fosfolipídios secos foram dissolvidos pela adição de 1 ml de 1:1 metanol/tolueno, os tubos foram agitados e em seguida foi adicionado 1 ml de KOH 0,2 M os mesmos foram levados para banho-maria a 40°C por 15 minutos. Após essa etapa foi adicionado 2 ml de água deionizada, 0,3 ml ácido acético 1 M e 0,5 ml de hexano, o conteúdo foi homogenizado em vortex e ficou em repouso para separação das fases. Após a formação dos FAMES, a mistura de reação foi dividida em duas fases pela adição de hexano e a fase orgânica aspirada, evaporada sob atmosfera de N<sub>2</sub> ultrapuro, ressuspensa em volume reduzido de hexano e transferida para frascos (GC vials) para a análise por cromatografia gasosa.

A análise dos ésteres metílicos foi realizada através da injeção de 1 µL das amostras e padrões em cromatógrafo a gás acoplado com coluna capilar (5% bifênil-95% dimetilpolisiloxano, 25 m) e detector de ionização de chama (FID). O equipamento foi programado para promover um incremento de 5°C por minuto, desde 120 a 270 °C. As temperaturas do injetor e do detector são de 250°C e 280°C, respectivamente.

Os ésteres metílicos (FAME) das amostras foram identificados por comparação entre os tempos de retenção e padrões de fragmentação com os dos seus respectivos padrões isolados. Além disso, foram utilizados também, para auxiliar na identificação, os padrões de fragmentação pertencentes à biblioteca NIST (2004).

A comunidade microbiana foi determinada por análise de fosfolipídios (PLFA) de acordo com Frostegard et al. (1991). Foi usada a nomenclatura de ácidos graxos discutida por Frostegard et al (1993). A atividade da comunidade microbiana foi estimada pelo total de fosfolipídios extraídos (total de PLFAs em mmol) 15:0 *i*, 15:0 *a*, 15:0, 14:0 30H, 16:0 *i*, 16:1 ω7c, 16:1 ω5c, 16:0, 16:0 10Me, 17:0 *i*, 17:0 *a*, 17:0 *cy*, 17:0, 17:0 10 Me, 18:2 ω 6c, 18:1 ω 9c, 18:1 ω7c, 18:0, 19:0 *cy*.

### 3.7. Análises do Solo

Foram realizadas análises de macronutrientes totais das amostras do solo. A TFSA foi pesada para realização das análises químicas. A partir do extrato obtido após a digestão sulfúrica, na proporção de 2:1, foram determinados por destilação e titulação os teores de nitrogênio de acordo com a metodologia proposta por TEDESCO et al. (1995). E a partir do extrato obtido após a digestão nitroperclórica, na proporção de 6:1, foram determinados os teores de P por espectrofotômetro convencional a 420 nm, Ca, Mg e Fe por espectrofotometria de absorção atômica, empregando-se o equipamento VARIAN – AA600. A metodologia seguida foi proposta por MALAVOLTA et al. (1995).

Também foram determinados o pH, os teores de argila, silte, areia, densidade do solo e a matéria orgânica total do solo com a metodologia seguida proposta pela EMBRAPA, 2009. Os resultados podem ser observados pelos valores médios de cada variável apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Valores médios das variáveis químicas e físicas do solo.

| Área     | pH   | M.O            | Argila | Silte | Areia | DS                 | N    | P    | Ca                            | Mg   | Fe                  |
|----------|------|----------------|--------|-------|-------|--------------------|------|------|-------------------------------|------|---------------------|
|          |      | -----g/kg----- |        |       |       | Mg m <sup>-3</sup> |      |      | -----g.kg <sup>-1</sup> ----- |      | mg.kg <sup>-1</sup> |
| Creche 4 | 6,58 | 31,09          | 648,00 | 67,0  | 284,0 | 1,33               | 1,59 | 1,24 | 0,23                          | 0,12 | 3045,2              |
| Creche 5 | 6,6  | 29,80          | 584,00 | 75,0  | 340,0 | 1,38               | 1,53 | 1,40 | 0,30                          | 0,12 | 2756,0              |
| Floresta | 5,02 | 35,18          | 560,00 | 51,0  | 388,0 | 1,00               | 1,64 | 0,93 | 0,00                          | 0,07 | 2462,3              |

### 3.8. Estatística e Interpretação dos Resultados

Os dados foram submetidos à análise de componentes principais (ACP) por meio do programa ADE-4 disponível para R (R Core Development Team, 2011) (Thioulouse et al., 1997). A ACP baseia-se na transformação linear de "n" variáveis originais em "n" variáveis produzidas pelo sistema. Os eixos  $x$  e  $y$ , denominados componentes principais, construídas pela combinação da correlação entre as variáveis, estes são extraídos em ordem decrescente de importância de acordo com sua contribuição para a variação total dos dados. Os componentes principais, dispostos num espaço de duas dimensões, representam variabilidade suficiente que possa indicar algum padrão a ser interpretado. Autovetor é o valor que representa o peso de cada variável em cada componente (eixos) e funciona como coeficiente de correlação que varia de -1 a +1.

Procedeu-se também à análise de correspondência canônica (Ter Braak, 1986) e análise de componentes principais com respeito a variáveis instrumentais (Rao, 1964) com o objetivo de correlacionar a distribuição das espécies com as variáveis ambientais. Este método permite manipular diversas variáveis simultaneamente e são frequentemente utilizados em estudos de ecologia.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

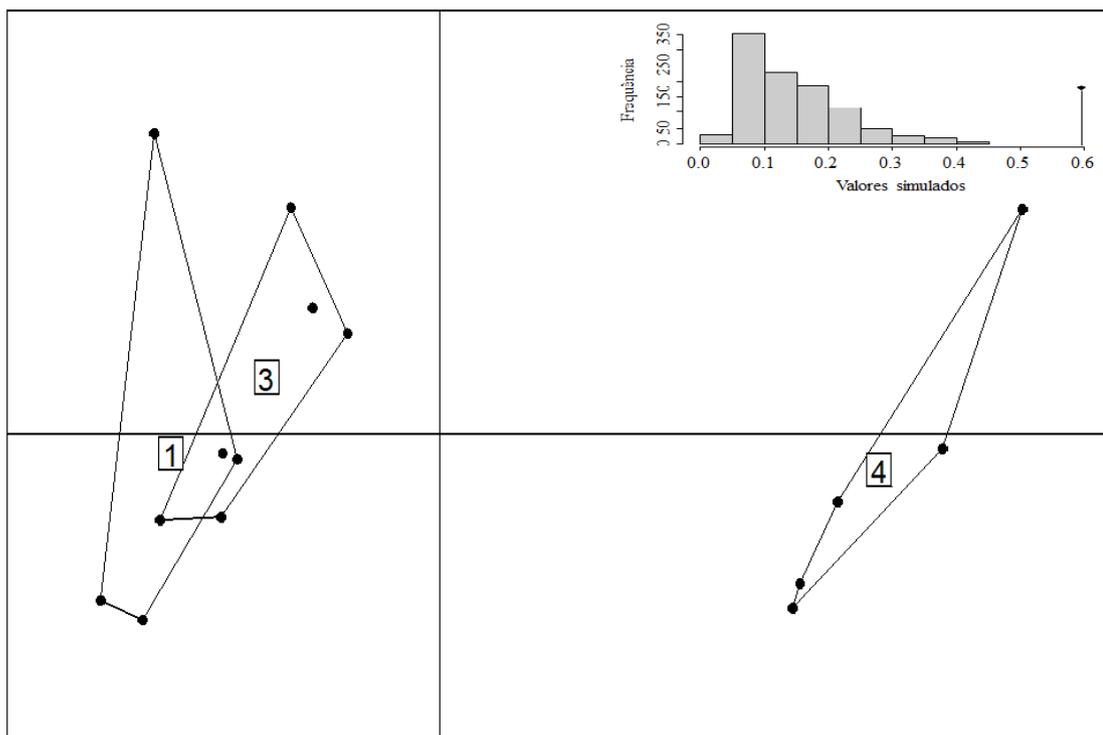
A distribuição da comunidade microbiana foi a mesma nas duas áreas de pastagem avaliadas para a época chuvosa (Figura 3). Esse resultado sugere que a diferença de tempo de formação dessas pastagens (um e três anos) não afetou a estrutura da comunidade microbiana. Essas áreas também apresentaram uma maior distribuição de microrganismos em comparação com a área de floresta (Figura 3). Isso se deve, em grande parte, ao tipo de vegetação presente nessas áreas, que são distintos. Independente do tempo de implantação, as áreas de pastagem apresentam densidade de plantas maior em comparação com a área de floresta e, conseqüentemente, maior densidade de raízes.

Além disso é um fato conhecido que o bioma cerrado apresenta solos altamente intemperizados, possuem baixa fertilidade e elevada acidez Lopes & Cox (1977). Fatores que contribuem para que os pastos implantados e bem manejados apresentem maior distribuição de organismos em comparação a área de floresta nativa.

O tipo das raízes que predominam nas áreas de pastagem é fasciculado, o qual se desenvolve próximo a superfície do solo e possui mais pelos radiculares, quando comparado com espécies de raízes pivotantes, encontradas em maioria das florestas. Essa anatomia fasciculada promove um ambiente favorável ao desenvolvimento da microbiota do solo, vez que permite maior liberação de compostos resultantes da exsudação radicular. Estes compostos são usados pelos microrganismos como substrato favoráveis a sua atividade metabólica.

A disponibilidade de nutrientes na rizosfera é resultado da translocação de fotossintatos da parte aérea das plantas, via floema, para as raízes, onde sustentam os processos biossintéticos, sendo uma parte liberada para o solo rizosférico. A quantidade de fotossintatos rizodepositados é variável em função da espécie vegetal e dos fatores ambientais, sendo os valores mais comuns entre 10 e 100 mg de carbono/grama de raiz seca ou, aproximadamente, 20% dos fotossintatos (WHIPPS, 1985, citado por ZAGO, et al., 2000).

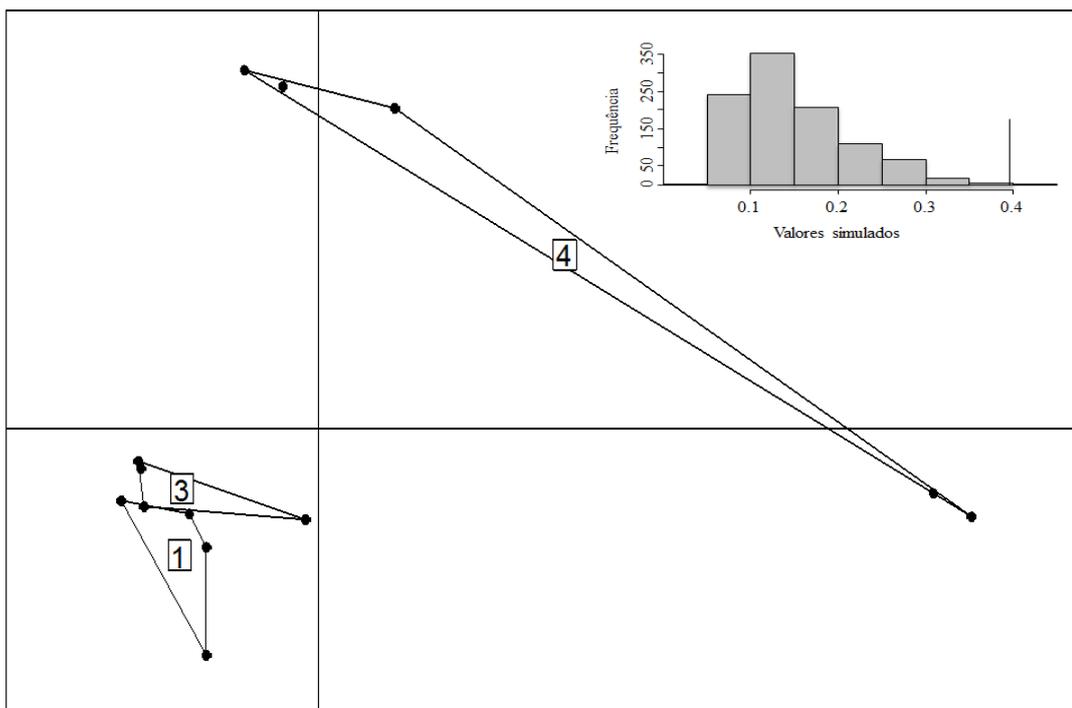
O efeito rizosférico é geralmente superior em leguminosas, pois a relação C:N dos exudados das plantas desse grupo é menor o que facilita a utilização pelos microrganismos, permitindo maior proliferação de células (KOLB; MARTIN, 1988). Entretanto, apesar das gramíneas possuírem relação C:N maior dos exudados, elas possuem um sistema radicular mais denso e de renovação intensa, que torna seu efeito rizosférico total maior que de espécies leguminosas (LYNCH, 1984).



**Figura 3.** Alterações na estrutura da comunidade microbiana do solo em período chuvoso em função do manejo e tipo de cobertura vegetal (1: pasto com um ano; 3: pasto com três anos; 4: floresta), de acordo com a Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando-se teste de permutação baseado em 1000 permutações. O pacote estatístico utilizado é o “ade4” (Thioulouse et al. (1997), <http://pbil.univlyon1.fr/ADE-4/>) disponível para R (R Core Development Team, 2011). O valor observado é dado pela linha vertical, à direita do histograma. A estrutura da comunidade microbiana foi investigada pela técnica de ácidos graxos de fosfolípidios semelhante à técnica descrita por Frostegard et al. (1991). Os pontos representam a posição média das amostras sob cada cobertura vegetal.

Na época seca pode se observar um comportamento similar a época chuvosa como discutido anteriormente (Figura 4). Sabe-se que biomassa microbiana é a fração viva da matéria orgânica e pode ser sensivelmente alterada pelas condições impostas pelo meio (BALOTA et al., 2008). Tais alterações estão diretamente ligadas ao regime hídrico e ao clima da região, à estrutura e ao manejo do solo, e ao teor e à qualidade dos resíduos vegetais aportados (ROGERS & TATE III, 2001; TIEDJE et al., 2001). Porém no presente trabalho o regime hídrico não alterou a distribuição da comunidade microbiana. O manejo adotado e o tipo de cobertura vegetal são os principais responsáveis por essa distribuição da comunidade microbiana.

Estudos conduzidos por Pfenning et al. (1992), Feigl et al. (1995) e Fernandes (1999), em solos de textura média a arenosa da Amazônia, mostraram o aumento do Carbono na biomassa microbiana em áreas sob pastagem, corroborando os resultados encontrados neste estudo.



**Figura 4.** Alterações na estrutura da comunidade microbiana do solo em período seco em função do manejo e tipo de cobertura vegetal (1: pasto com um ano; 3: pasto com três anos; 4: floresta), de acordo com a Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando-se teste de permutação baseado em 1000 permutações. O pacote estatístico utilizado é o “ade4” (Thioulouse et al. (1997), [http:// pbil.univlyon1.fr/ ADE-4/](http://pbil.univlyon1.fr/ADE-4/)) disponível para R (R Core Development Team, 2011). O valor observado é dado pela linha vertical, à direita do histograma. A estrutura da comunidade microbiana foi investigada pela técnica de ácidos graxos de fosfolipídios semelhante à técnica descrita por Frostegard et al. (1991). Os pontos representam a posição média das amostras sob cada cobertura vegetal.

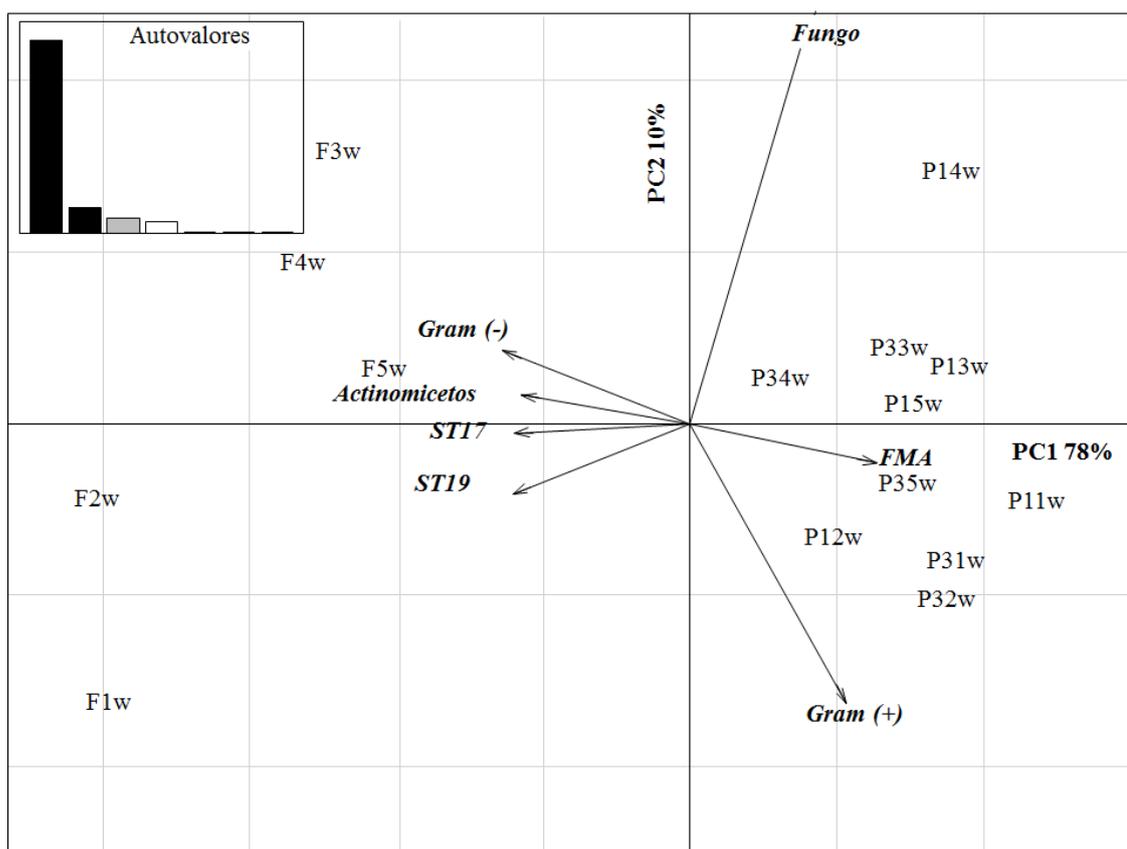
Na época chuvosa, de acordo com a figura 5 observamos a presença de fungos, FMA e bactérias Gram (+) nas aéreas de pastagem, independente do tempo de formação. Na área de floresta foi observado a presença de actinomicetos e bactérias Gram (-) que estão sob condição de estresse, indicados na figura pelo ST17 (cy 17 pre) e ST19 (cy 19 pre), essas variáveis foram observadas com base na relação do PLFA 17:cy e seu precursor 16:1  $\omega$  7c e com a relação 19:0 cy e seu precursor 18:1  $\omega$  7c.

Quanto ao tipo de organismos presentes nas áreas estudadas, nas áreas de pastagem predomina a presença de organismos de hábito de sobrevivência oportunista, como fungos, fungos micorrízicos arbusculares que se beneficiam da maior oferta de substrato radicular e bactérias gram positivas. Estes organismos são de crescimento rápido e tem alta habilidade competitiva, predominando em raízes jovens. Na área de floresta foi observada a presença de actinomicetos e bactérias gram negativas organismos de sobrevivência estrategista que são muito adaptados a esse ambiente, pois são especializados e presentes em raízes mais velhas. Assim o tipo de cobertura e o manejo adotado explica a distribuição dos organismos no sistema como discutido anteriormente.

Os microrganismos localizam-se, nas regiões de ramificações e partes mais velhas da raiz e são agrupados em: oportunistas (predominando nas raízes mais novas, com crescimento rápido, alta capacidade competitiva e população de pequeno tamanho) e estrategistas (com maior tamanho de população, alta longevidade, baixa mortalidade e crescimento lento, são muito especializados e predominam nas raízes mais velhas) (SIQUEIRA & FRANCO,1988).

As relações entre alguns ácidos graxos extraídos da fração fosfolipídica são alteradas sob condições de estresse. Diferenças nessas relações em amostras obtidas de ambientes distintos indicam alterações fisiológicas na comunidade microbiana em resposta a algum fator de estresse do meio. O aumento da relação entre isômeros trans e cis de FAMES monoinsaturados podem indicar que a comunidade microbiana encontra-se sob privação de nutrientes ou sob algum outro tipo de estresse ambiental (GUCKERT et al., 1986; KIEFT et al., 1994; PIETIKÄINEN et al., 2000).

A relação entre o PLFA 19:0cy e o seu precursor 18:1 $\omega$ 7c têm sido proposta com um indicador do status fisiológico de comunidades de bactérias Gram-negativas (BOSSIO; SCOW, 1998; BOSSIO et al., 1998). Os precursores são crescentemente convertidos para ácidos graxos ciclopropílicos à medida que as bactérias transitam de um estado de crescimento para um estado de ausência de crescimento.

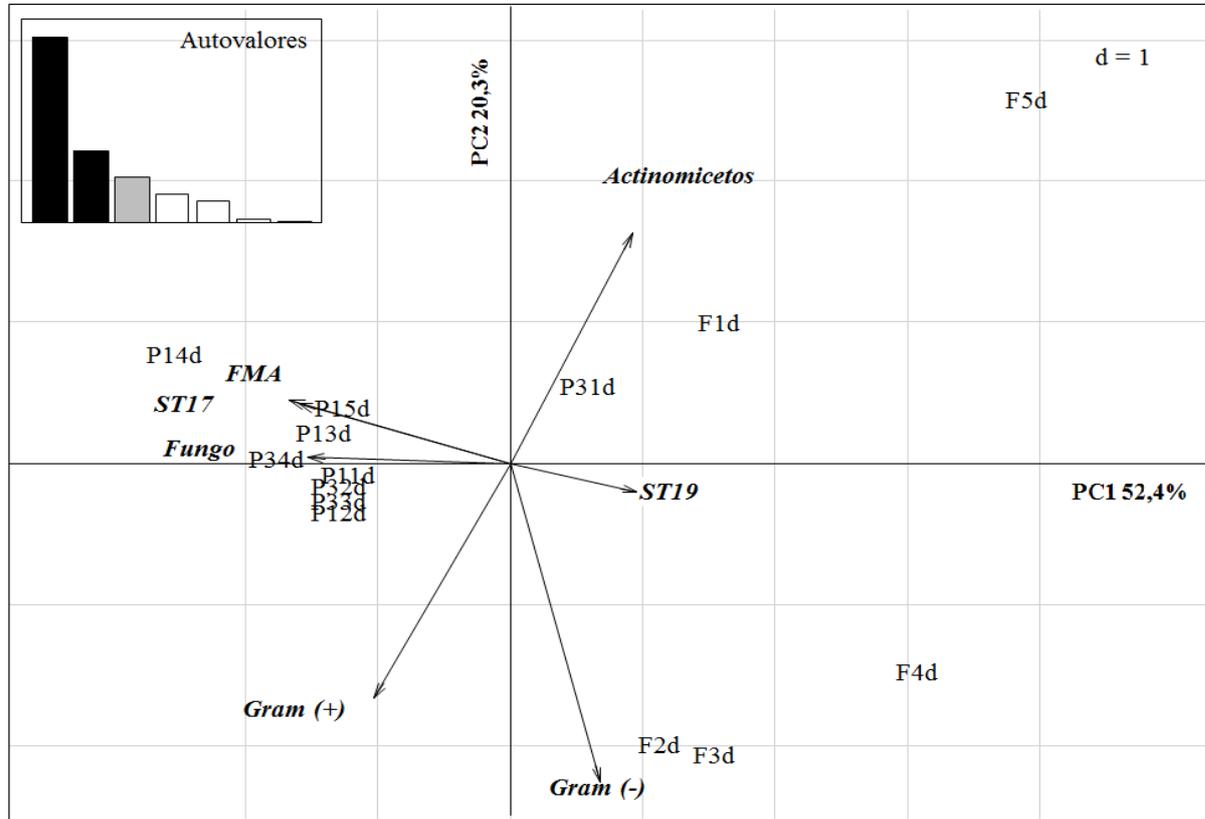


**Figura 5.** Distribuição da comunidade microbiana do solo em período chuvoso, Fungo Micorrízico Arbuscular (FMA); Fungo; Bactérias Gram(+); Bactérias Gram (-); Actinomicetos em função do manejo e tipo de cobertura vegetal (F: floresta; P1: pasto com um ano; P3: pasto com três anos). Além da condição em que os organismos se encontram (ST 17; ST 19). De acordo com análise de Componentes Principais: Variáveis são simbolizadas por setas. A escala do gráfico é dado por uma grade, o tamanho é dado no canto superior direito. O comprimento da parte lateral do lado de quadrículas, é igual a um. O gráfico de autovalores é desenhado no canto superior esquerdo, com as duas barras pretas correspondentes aos dois eixos usados para desenhando o biplot. Barras cinza correspondem aos eixos que foram mantidos na análise, mas não é usado para desenhando o gráfico.

Na época seca houve um comportamento similar dos organismos em relação à época chuvosa (Figura 6), já que, observa-se a presença de fungos, FMA e bactérias Gram (+) nas

aéreas de pastagem, independente do tempo de formação. E na floresta a presença de actinomicetos e bactérias Gram (-) sob condição de estresse indicado na figura pelo ST19 (cy 19 pre). Porém os microrganismos das áreas de pastagem estão sob condição de maior estresse indicado na figura pelo ST17 (cy 17 pre) o que não ocorreu na época chuvosa, sugerindo que esse estresse seja causado pela diminuição da quantidade de água nesse período.

Como discutido anteriormente o regime hídrico pode afetar negativamente a comunidade microbiana. Nos sítios de pasto a condição de seca afetou estado fisiológico das populações, mas a distribuição dos organismos foi similar para as duas épocas estudadas.

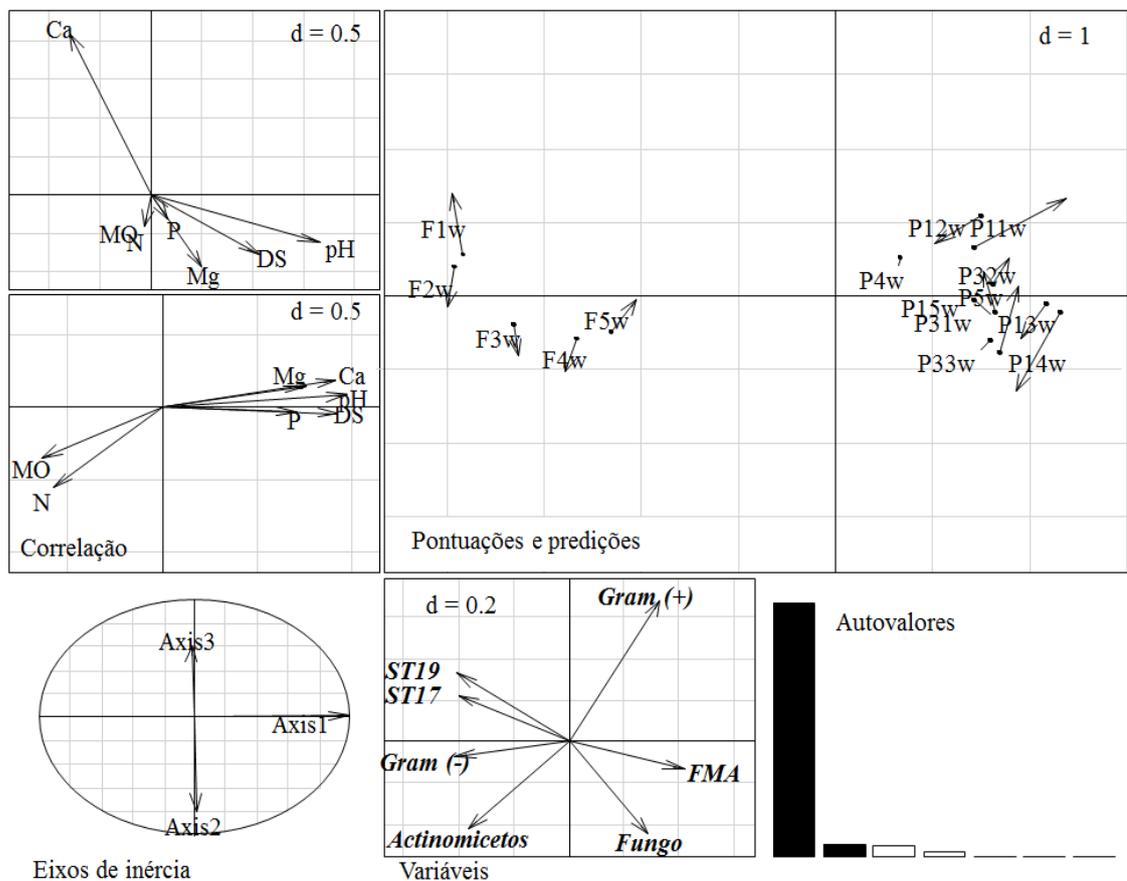


**Figura 6.** Distribuição da comunidade microbiana do solo em período seco, Fungo Micorrízico Arbuscular (FMA); Fungo; Bactérias Gram(+); Bactérias Gram (-); Actinomicetos em função do tipo de cobertura vegetal (F: floresta; P1: pasto com um ano; P3: pasto com três anos. Além da condição em que os organismos se encontram (ST17; ST19). De acordo com análise de Componentes Principais: Variáveis são simbolizadas por setas. A escala do gráfico é dado por uma grade, o tamanho é dado no canto superior direito. O comprimento da parte lateral do lado de quadrículas, é igual a um. O gráfico de autovalores é desenhado no canto superior esquerdo, com as duas barras pretas correspondentes aos dois eixos usados para desenhá-lo. Barras cinza correspondem aos eixos que foram mantidos na análise, mas não é usado para desenhá-lo.

Na Figura 7 o eixo RS1 foi considerado como sendo o contraste entre disponibilidade de MO e a disponibilidade de bases. Sítios ao longo da faixa positiva do eixo RS1 tendem a ter menor MO e N e maior disponibilidade de bases, enquanto os sítios em valores negativos do eixo RS1 tendem a ter menor contraste (mais equilíbrio nas disponibilidades) entre essas disponibilidades. FMA foram dominantes na condição de maior disponibilidade de bases e menor quantidade de N (pastos independente da idade). Índices de estresse foram maiores no

sítio de floresta do que nos sítios de pastagem. Estes resultados são esperados uma vez que a atividade de microrganismos diminui com reduções na fertilidade do solo (Berbara et al., 2006).

Cerca de 86% da variação microbiana na estação chuvosa pode ser explicada pelos dados de fertilidade. O eixo RS1 contribui com 89% da variação, logo é o eixo de maior valor interpretativo. O eixo RS2 de conta de apenas 4.6% da variação microbiana. Isso parece que a disponibilidade de N está tendo papel fundamental na discriminação entre a floresta e a pastagem.



**Figura 7.** Diagrama produzido pela análise de correspondência canônica (CCA, Ter Braak, 1986) e Análise de Componentes Principais com Respeito a Variáveis Instrumentais (PCAIV, Rao, 1964). As variáveis instrumentais são: MO (matéria orgânica); DS (densidade do solo); pH (potencial de hidrogênio); N (nitrogênio); P (fósforo); Ca (cálcio) e Mg (magnésio).

**Tabela 4.** Correlação entre eixos e variáveis de solo “PCAIV” época chuvosa.

|                  | RS1        | RS2         |
|------------------|------------|-------------|
| Nitrogênio       | -0.5737211 | -0.55444163 |
| Fósforo          | 0.7039977  | -0.03581140 |
| Cálcio           | 0.9140426  | 0.18726352  |
| Magnésio         | 0.7536511  | 0.14852585  |
| pH               | 0.9774722  | 0.08464489  |
| Matéria orgânica | -0.6368711 | -0.34839615 |

---

Cerca de 69% da variação na estrutura microbiana baseada no perfil dos PLFA na época seca foi explicada pelos dados de fertilidade do solo. O eixo RS1 contribuiu com 71% da variação e o eixo RS2 contribui com 13.65%.

O eixo RS1 representa um contraste entre a disponibilidade de N e MO e a disponibilidade de bases.

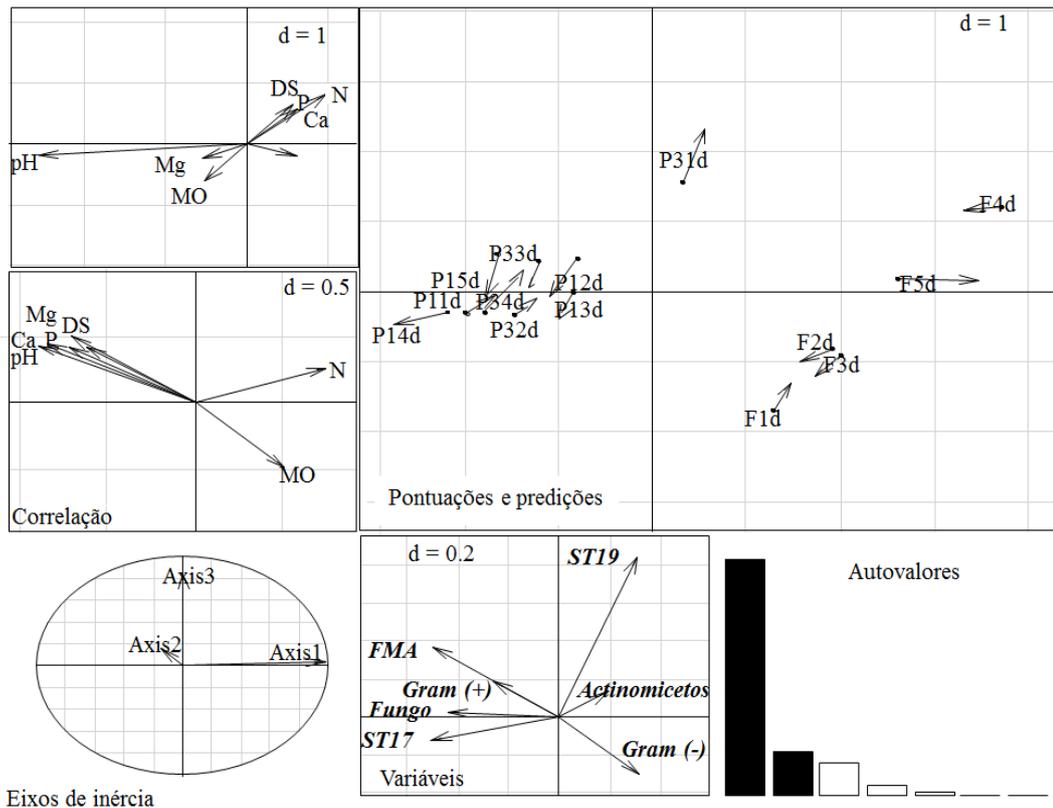
O eixo RS2 representa a disponibilidade de MO. Quanto mais positivo os valores do eixo 2, menor a disponibilidade de MO. Uma vez que os sítios de pastos estão próximos em uma posição central ao longo do eixo 2, isso sugere que a MO nesses sítios, independente do tempo de formação, é similar. Por outro lado, existe maior contraste entre os sítios dentro da floresta com relação a disponibilidade de MO, o que pode explicar porque que a heterogeneidade (dispersão dos sítios na ordenação) é mais marcante na floresta do que nos pastos.

A matéria orgânica está presente em sua forma mais labil nas áreas de pastagem em relação a floresta devido a adição significativa de resíduos pela parte aérea e raízes das plantas com baixa relação C:N. Com essa diferença da labilidade da matéria orgânica, os microrganismos tendem a se comportar de maneira distinta.

Corroborando com os dados apresentados, Carneiro et al. (2008) relataram aumento de aproximadamente 50% no valor do carbono da biomassa microbiana em pastagem de *Brachiaria decumbens* em sistema integração lavoura-pecuária em relação ao cerrado nativo, sendo atribuído ao sistema radicular fasciculado da gramínea, que se concentra nos primeiros 10 cm de profundidade resultando em maior entrada de carbono no solo, via rizosfera e necromassa que atuam na ativação da microbiota do solo.

Estudando a origem do C presente em solo da região Amazônica, em floresta natural, e em área com a implantação de pastagem, Cerri (1989) verificou que os processos biológicos que ocorrem na área após os oito anos de implantação da pastagem, estão mais relacionados com o carbono introduzido ao sistema pela pastagem que com o carbono remanescente da mata natural, mais antiga e estável, evidenciando a sustentabilidade do ecossistema de pastagens.

Contudo, ciclagem de nutrientes por meio dos resíduos vegetais assegura a manutenção de parte substancial dos nutrientes do sistema, favorecendo a sustentabilidade da produção de pastagens (MONTEIRO & WERNER, 1989).



**Figura 8.** Diagrama produzido pela análise de correspondência canônica (CCA, Ter Braak, 1986) e Análise de Componentes Principais com Respeito a Variáveis Instrumentais (PCAIV, Rao, 1964). As variáveis instrumentais são: MO (matéria orgânica); DS (densidade do solo); pH (potencial de hidrogênio); N (nitrogênio); P (fósforo); Ca (cálcio) e Mg (magnésio).

**Tabela 5.** Correlação entre eixos e variáveis de solo “PCAIV” época seca.

|                   | RS1        | RS2        |
|-------------------|------------|------------|
| Nitrogênio        | 0.7500658  | 0.2701458  |
| Fósforo           | -0.6140254 | 0.4276640  |
| Cálcio            | -0.8377015 | 0.4513846  |
| Magnésio          | -0.7214087 | 0.4206851  |
| pH                | -0.8943519 | 0.4384497  |
| Matéria orgânica  | 0.5127967  | -0.4866668 |
| Densidade do solo | -0.7016413 | 0.5094528  |

## 5. CONCLUSÕES

A cobertura e o manejo exercido sobre o solo em sistema integração lavoura-pecuária influenciou a distribuição, estrutura e condições fisiológicas das populações microbianas do solo.

A distribuição dos microrganismos foi maior nas áreas de pastagem em relação a área de floresta, onde ocorreu a predominância de organismos de hábito de sobrevivência oportunista em comparação com a área de floresta onde a presença predominante foi de organismos estrategistas. A distribuição foi a mesma nas duas áreas de pastagem estudadas e a diferença de tempo de implantação dessas pastagens não influenciou na estrutura da comunidade microbiana.

Índices de estresse foram maiores no sítio de floresta do que nos sítios de pastagem em ambas as épocas provavelmente em função dos baixos níveis de fertilidade natural destes solos bem como da sua elevada acidez.

A variação microbiana na estação chuvosa e seca pode ser explicada pelos dados de fertilidade. A matéria orgânica nos sítios de pastagem independente do tempo de formação, é similar. Na floresta há um maior contraste com relação a disponibilidade de MO, o que pode explicar porque que a heterogeneidade é mais marcante na floresta do que nos pastos.

Estratégias de manejo e uso de solos, que proporcionam o aumento/manutenção do carbono no solo, são condição essencial para a manutenção de sua sustentabilidade. Neste sentido, a integração lavoura-pecuária pode ser estratégia interessante para a utilização racional e não degradação do solo.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTIERI, M. A. Agroecology: the science of sustainable agriculture. 2.ed. Boulder, CO: Westview; London: IT Publication, 1995. 433 p. In: CAMPANHA, M. M.; NOGUEIRA, S. R.; OLIVEIRA, S. T.; TEIXEIRA, S. A.; ROMERO, E. R. Teores e Estoques de Carbono no Solo de Sistemas Agroflorestais e Tradicionais no Semiárido Brasileiro. Sobral, CE: Embrapa Caprino e Ovinos, 2009.v.42, 13p.

ANDREOLA, E.; FERNANDES, S. A. D. A microbiota do solo na agricultura orgânica e no manejo das culturas. In: SILVEIRA, A. P. D. da.; FREITAS, S. dos S. Microbiota do solo e qualidade ambiental. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007. Cap. 2. P. 21-39.

AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J. & FERNANDES, S.B.V. Leguminosas e adubação mineral como fontes de nitrogênio para o milho em sistemas de preparo do solo. Revista Brasileira de Ciências do Solo, 24:179-189, 2000.

ARSHAD, M. A & COEN, G. M. Characterization of soil quality: Physical and chemical criteria. American Journal of Alternative Agriculture. Cidade, v. 7, n. 1 e 2, p. 25-31, 1992.

BAILEY, V.L., SMITH, J.L., BOLTON JR., H. Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced carbon sequestration. Soil Biol. Biochem. 34:997-1007. 2002.

BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S. & HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. R. Bras. Ci. Solo, 22:641-649, 1998.

BARRETO, R.C., MADARI, B.E., MADDOCK, J.E.L., MACHADO, P.L.O.A., TORRES, E., FRANCHINI, J., COSTA, A.R. The impact of soil management on aggregation, carbon stabilization and carbon loss as CO<sub>2</sub> in the surface layer of a Rhodic Ferralsol in Southern Brazil. Agriculture, Ecosystems and Environment, 132:243–251. 2009.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Características químicas do solo afetadas por métodos de preparo e sistemas de cultura. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v. 21, p. 105-112, 1997.

BERBARA, R.L.L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. A. M. Fungos Micorrízicos Arbusculares: Muito Além da Nutrição. In: Manlio Silvestre Fernandes. (Org.). Nutrição Mineral de Plantas. 09 ed. Viçosa, MG: UFV, 2006, v. , p. 53-88.

BLIGH, E.G., and W.J. DYER. A rapid method for total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37:911-917. 1959.

BOSSIO, D. A.; SCOW, K. M. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. Microbial Ecology, New York, v. 35, n. 3, may./jun. p. 265-278, 1998.

BOSSIO, D. A.; SCOW, K. M.; GUNAPALA, N.; GRAHAM, K. J. Determinants of soil microbial communities: Effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. Microbial Ecology, New York, v. 36, n. 1, jul./ aug. p. 1-12, 1998.

CARNEIRO, M.A.C.; ASSIS, P.C.R.; MELO, L.B. de C.; PEREIRA, H.S.; PAULINO, H.B.; SILVEIRA NETO, A.N. da. Atributos bioquímicos em dois solos cerrado sob diferentes sistemas manejo e uso. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.38, p.276-283, 2008.

CERRI, C. C. Dinâmica da matéria orgânica em solos de pastagens. In: *Simpósio Sobre Ecossistema de Pastagens, Anais*. Jaboticabal: FUNEP, p.134-147, 1989.

CERRI, C. E. P.; SPAROVEK, G.; BERNOUX, M.; EASTERLING, W. E.; MELILLO, J. M.; CERRI, C. C. Tropical agriculture and global warming: impacts and mitigation options. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 64, p. 83-99, 2007.

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

CHAER, M. G.; FERNANDES, F. M. Análise de perfis de ácidos graxos como ferramenta para estudos em microbiologia do solo – Aracaju : Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2010.37 p. (Documentos / Embrapa Tabuleiros Costeiros, ISSN 1517-1329; 163).

CONCEIÇÃO, P. C.; AMADO, T. J. C.; MIELNICZUK, J.; SPAGNOLLO, E. Qualidade do solo em sistemas de manejo avaliada pela dinâmica da matéria orgânica e atributos relacionados. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 29, p. 777-788, 2005.

CORAZZA, J. E.; SILVA, E. J.; RESCK, S. V. D.; GOMES, C. A. Comportamento de diferentes sistemas de manejo como fonte ou depósito de carbono em relação à vegetação de Cerrado R. Bras. Ci. Solo, 23:425-432, 1999.

CORRÊA, R.M. Avaliação de atributos de solos sob diferentes usos em perímetro irrigado do vale do Rio São Francisco. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Agronomia. UFRPE, Recife-PE. 2007.

CURRY, J.P.; BRYRNE, K.E. The earthworm population of winter cereal field and its effects on soil and nitrogen turnover. *Biology and Fertility of Soils*, v.19, p.166-172, 1995.

DEBARBA, L.; AMADO, T. J. C. Desenvolvimento de sistemas de produção de milho no Sul do Brasil com características de sustentabilidade. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 21, p. 473-480, 1997.

DICK, R.P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (Ed.). *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p.107-124.

DORAN, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. *Soil Science Society of America Journal*, v.44, p.765-771, 1980.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B., Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (eds). *Defining soil quality for a sustainable environment*. SSSAJ, Madison, (Publication Number 35), 1994. p.3-22.

DEBARBA, L.; AMADO, T. J. C. Desenvolvimento de sistemas de produção de milho no Sul do Brasil com características de sustentabilidade. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 21, p. 473-480, 1997.

DUXBURY, J.M.; SMITH, M.S. & DORAN, J.M. Soil organic matter as a source and a sink of plant nutrients. In: COLEMAN, D.C.; OADES, J.M. & UEHARA, G. eds. *Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems*. Honolulu, University of Hawaii, 1989. p. 33-67.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos (Rio de Janeiro). *Manual de métodos de análises de solo*. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. Editor Técnico, SILVA, F.C. da. - 2. ed. rev. ampl. - Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2009.627 p.

FALEIRO, F. G.; GAMA, L. C.; FARIAS NETO, A. L. & SOUSA, E. S. O Simpósio Nacional sobre o Cerrado e o Simpósio Internacional sobre Savanas Tropicais. In: FALEIRO, F. G.; FARIAS NETO, A. L. *Savana: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais*. Planaltina / Brasília: Embrapa Cerrados / Embrapa Informações Tecnológicas, 2008, cap. 1, p. 32-46.

FEDERLE, T.W. Microbial distribution in soil - new techniques. In: MEGUSAR F. and M. GANTAR, M. eds. *Perspectives in microbial ecology*. Slovene Society for Microbiology, Ljubljana, Yugoslavia, p. 493-498, 1986.

FIDALSKI, J.; TORMENA, C.A.; SCAPIM, C.A. Espacialização vertical e horizontal dos indicadores de qualidade para um Latossolo Vermelho cultivado com citros. *R. Bras. Ci. Solo*, 31:9-19, 2007.

FEIGL, B. J.; SPARLING, G. P.; ROSS, D. J.; CERRI, C. C. Soil microbial biomass in Amazonian soils: evaluation of methods and estimates of pool sizes. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 27, n. 11, p. 1467- 1472, 1992.

FEIGL, B. J.; SPARLING, G. P.; ROSS, D. J.; CERRI, C. C.; FEIGL, B.J.; MELILLO, J. & CERRI, C.C. Changes in the origin and quality of soil organic matter after pasture introduction in Rondônia (Brazil). *Plant Soil*, 175:21-29, 1995.

FERNANDES, M. F. Fatty acid profiling of soil microbial communities: A comparison of extraction methods and temporal dynamics in plant residue amended soils. (Dissertation). *Crop and Soil Science*, Oregon State University, Corvallis, 2006. 154 p.

FERNANDES, S. A. P. Propriedades do solo na conversão de floresta em pastagem fertilizada e não fertilizada com fósforo na Amazônia (Rondônia). 1999. 131 f. Tese (Doutorado em Ciências - Energia Nuclear na Agricultura)- Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

FILSER, J.; FROMM, H.; NAGEL, R.F.; WINTER, K. Effects of previous intensive agricultural management on microorganisms and the biodiversity of fauna. *Plant na Soil*, v. 170, p.123-129, 1995.

FONSECA, G. C.; CARNEIRO, M. A. C.; COSTA, A. R.; OLIVEIRA, G. C. & BALBINO, L. C. Atributos físicos, químicos e biológicos de Latossolo vermelho distrófico de cerrado sob duas rotações de cultura. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 37, n. 1, p. 22-30, 2007s, sendo o solo o maior reservatório na superfície terrestre.

FROSTEGÅRD, A., A. TUNLID, and E. BÅÅTH. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology and Biochemistry* 25:723-730. 1993.

GOEDERT, W. & OLIVEIRA, S. A. Fertilidade do solo e sustentabilidade da atividade agrícola. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B. & NEVES, J. C. L. Fertilidade do solo, Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007, p. 991-1017.

GUCKERT, J. B.; HOOD, M. A.; WHITHE, D. C. Phospholipid ester-linked fatty acid profile changes during nutrient deprivation of *Vibrio cholerae*: Increases in the trans/cis ratio and proportions of cyclopropyl fatty acids. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 52, p. 794-801, 1986.

HAYNES, R.J. & WILLIAMS, P.H. Influence of stock camping behavior on the soil microbiological and biochemical properties of grazed pastoral soils. *Biol. Fert. Soils*, 28:253-258, 1999.

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.

HOUGHTON, R.A. Changes in the storage of terrestrial carbon since 1850. In: LAL, R.; KIMBLE, J.; LEVINE, E. & STEWART, B.A. eds. *Soils and global change*. Boca Raton, CRC Lewis Publishers, 1995. p.45-65.

JACKSON, L.E., F.J. CALDERON, K.L. STEENWERTH, K.M. SCOW, and D.E. ROLSTON. Responses of soil microbial processes and community structure to tillage events and implications for soil quality. *Geoderma* 114:305-317, 2003.

JANTALIA, C. P.; TARRÉ, R. M.; MACEDO, R. O.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Acumulação de carbono no solo em pastagens de *Brachiaria*. In: ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; AITA, C.; BODDEY, R. M.; JANTALIA, C. P.; CAMARGO, F. O. (Ed.). *Manejo de sistemas agrícolas: Impacto no sequestro de C e nas emissões de gases de efeito estufa*. Porto Alegre: Genesis, 2006. p. 157-170.

KATES, M. *Techniques of lipidology*. 2nd revised edition. New York: Elsevier Science Publishers. 1986.

KIEFT, T. L.; RINGELBERG, D. B.; WHITE, D. C. Changes in ester-linked phospholipid fatty acid profiles of subsurface bacteria during starvation and desiccation in a porous medium. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 60, p. 3292-3299, 1994.

KING, J.D., D.C. WHITE, AND C.W. TAYLOR. 1977. Use of lipid composition and metabolism to examine structure and activity of estuarine detrital microflora. *Applied and Environmental Microbiology* 33:1177-1183.

KLUTHCOUSKI, J. & YOKOYAMA, L. P. Opções de integração lavoura-pecuária. In: In: KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F. & AIDAR, H. Integração Lavoura-Pecuária. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. cap. 4, p. 131-141.

KOLB, W.; MARTIN, P. Influence of nitrogen on the number of N<sub>2</sub>-fixing and total bacteria in the rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry*, v.20, p. 221-5, 1988.

KROPPESTEDT, R.M. The genus *Nocardiopsis*, p. 1139-1156. In: ROSENBERG, E.; DELONG, E. F.; LORY, S.; STACHEBRANDT, E.; THOMPSON, F. The prokaryotes, Vol. 2. Springer, Berlin. 1992

KUBRUSLY, L.S. Um procedimento para calcular índices a partir de uma base de dados multivariados. *Pesquisa Operacional*, v. 21, No. 1, p. 107-117, 2001.

LAL, R.; KIMBLE, J. & STEWART, B.A. World soils as a source or sink for radiatively-active gases. In: LAL, R.; KIMBLE, J.; LEVINE, E. & STEWART, B.A., eds. Soil management and greenhouse effect. Boca Raton, CRC Lewis Publishers, p.1-7, 1995.

LOPES, A.S. & COX, F.R. A survey of the fertility status of surface soils under “cerrado” vegetation in Brazil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, Madison, 41(4): 742-7, 1977.

LOVATO, T.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; VEZZANI, F. Adição de carbono e nitrogênio e sua relação com os estoques no solo e com o rendimento do milho em sistemas de manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 28, p. 175- 187, 2004.

LYNCH, J.M. Interactions between biological processes cultivation and soil structure. *Plant Soil*, v.76, p.307-18, 1984.

MADARI, B. E.; MACHADO, P. L. O. A.; TORRES, E.; ANDRADE, A. G. & VALENCIA, L. I. O. No tillage and rotation effects on soil aggregation and organic carbon in a Rhodic Ferralsol from southern Brazil. *Soil & Tillage Research*, v. 80, n. 1-2, p. 185-200, 2005.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Potafós, 1997. 319p.

MATSUOKA, M.; MENDES, I. C.; LOUREIRO, M. F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 425-433, 2003.

MENDES, I. de C.; REIS JUNIOR, F. B. dos. Uso de Parâmetros Microbiológicos como Indicadores para Avaliar a Qualidade do Solo e a Sustentabilidade dos Agroecossistemas. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2004. 39p.

MIRANDA, T.; MACHADO, R.; MACHADO, H.; BRUNET, J.; DUQUESNE, P. Valoración económica de bienes y servicios ambientales en dos ecosistemas de uso ganadero. *Zootecnia Tropical*, v. 26, n. 3, p. 187-189, 2008. In: : CAMPANHA, M. M.; NOGUEIRA, S. R.; OLIVEIRA, S. T.; TEIXEIRA, S. A.; ROMERO, E. R. Teores e Estoques de Carbono no Solo de Sistemas Agroflorestais e Tradicionais no Semiárido Brasileiro. Sobral, CE: Embrapa Caprino e Ovinos, 2009.v.42, 13p.

- MONTEIRO, F.A. WERNER, J.C. Ciclagem de nutrientes minerais em pastagens. In: Simpósio sobre ecossistema de pastagens, Anais. Jaboticabal: FUNEP, p. 149- 192. 1989.
- MUELLER, C. C. & MARTHA JÚNIOR. A Agropecuária e o Desenvolvimento Socioeconômico Recente do Cerrado. In: FALEIRO, F. G.; FARIAS NETO, A. L. Savana: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais. Planaltina / Brasília: Embrapa Cerrados / Embrapa Informações Tecnológicas, cap. 4, 2008. p. 105-169.
- MULLIS, K. B.; FALOONA, F. A; SCHARF, S.; SAIKI, R. K.; HORN, G.; ERLICH, H. A. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, p. 263-272, 1986.
- O'LEARY, W. M., & S. G. WILKINSON. 1988. Gram-positive bacteria, p. 117-201. In: RATLEDGE, C. and S. G. WILKINSON (ed.), Microbial lipids, vol. 1. Academic Press, San Diego.
- OLSSON, P. A. 1999. Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. FEMS Microbiology Ecology 29:303-310.
- OLSSON, P. A., E. BÅÅTH, I. JAKOBSEN, & B. SÖDERSTRÖM. 1995. The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. Mycological Research 99:623-629.
- PFENNING, L; B DE P EDUARDO & CC CERRI. 1992. Os Métodos de Fumigação-Incubação e Fumigação-Extração na Estimativa da Biomassa Microbiana de Solos da Amazônia. *Rev. Bras. Ci. Solo* 16: 31-37.
- PIETIKÄINEN, J.; HIUKKA, R.; FRITZE, H. Does short-term heating of forest húmus change its properties as a substrate for microbes? *Soil Biology & Biochemistry*, Elmsforde, v. 32, p. 277-288, 2000.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- RAO. The use and interpretation of principal component analysis in applied research. In: DRAY, S.; DEFOUR, A. B. The ade4 package – II: Two – table and K – table methods.v. 7, n. 2, p. 47-52. October, 2007.
- REDDY, M.V.; KUMAR, V.P.K.; REDDY, V.R.; Balasshour, P.; Yule, D.F.; Cogle, A.L.; Jangawad, L.S. Earthworm biomass response to soil management in semi-and tropical Alfisol agroecosystems. *Plant and Soil*, v.19, p. 317-321.1995.
- REZENDE, L.A.; ASSIS, L.C. & NAHAS, E. Carbon, nitrogen and phosphorus mineralization in two soils amended with distillery yeast. *Biores. Technol.*, 94:159-167, 2004.
- ROGERS, B. F.; TATE III, R. L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 33, n. 10, p. 1389-1401, 2001.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S. & FERREIRA, L. G. Mapeamento semidetalhado do uso da terra do Bioma Cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 43, n. 1, p. 153-156, 2008.

SANTANA, D.P.; BAHIA FILHO, A.F.C. A ciência do solo e o desafio da sustentabilidade agrícola. *Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v.23, n.2, p.19-23, 1998.

SANTOS, H. P.; FONTANELI, R. S.; TOMM, G. O.; SPERA, S. Efeito de sistemas de produção mistos sob plantio direto sobre fertilidade do solo após oito anos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 27, p. 545-552, 2003.

SIQUEIRA, J.O & FRANCO, A. *A Biotecnologia do solo: Fundamentos e Perspectivas*-Brasília: MEC Ministério da Educação, ABEAS: Lavras: ESAL. FAEPE, 1988, 236p.

SIQUEIRA, J.O. *Biologia do solo*. SIQUEIRA, J.O.; SYLVIA, D.M.; GIBSON, J. & HUBBELL, D.H. Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Can. J. Microbiol.* 31:965-972, 1985. Lavras, ESAL/ FAEPE, 1993. 230p.

SISTI, C. P. J.; SANTOS, H. P.; KOHHANN, R.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. & BODDEY, R. M. Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional or zero tillage in southern Brazil. *Soil & Tillage Research*, v. 76, n. 1, p. 39-58, 2004.

SPAGNOLLO, E. *Plantas de cobertura intercalares ao milho em sistemas de cultivo mínimo e convencional*. 2000. 121 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.

TEDESCO, M.J; GIANELLO, C; BISSANI, C. A; BOHNEN, H. & VOLKWEISS, S.J. *Análise de solo, plantas e outros materiais*. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.

TER BRAAK, C. J. F. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology*, v. 67, p. 1167-1179, 1986.

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, C.; GIL-SOTRES, F.; SEOANE, S. Towards a biochemical quality index for soils: an expression relating several biological and biochemical properties. *Biology and Fertility of Soils*, v.26, p.100-106, 1998.

TRECENTI, R.; OLIVEIRA, M .C. & HASS, G. *Integração Lavoura-Pecuária-Silvicultura*. In: TRECENTI, R.; OLIVEIRA, M. C. & HASS, G. (Ed) *Integração Lavoura-Pecuária-Silvicultura*. Brasília: MAPA/SDC, 2008. 54 p. (Boletim Técnico).

TIEDJE, J. M.; CHO, J. C.; MURRAY, A.; TREVES, D.; XIA, B.; AHOU, J. Soil teeming with life: new frontiers for soil science. In: REES, R. M.; BALL, B. C.; CAMPEBELL, C. D.; WATSON, C. A. (Org.). *Sustainable management of soil organic matter*. Wallingford: CAB International, 2001. p. 393-412.

THIOULOUSE, J.; CHESSEL, D.; DOLÉDEC, S. & OLIVIER, J.-M. ADE-4: A multivariate analysis and graphical display software, 1997. In: CHESSEL, D.; DUFOUR, B. A.; THIOULOUSE, J. *The ade4 package – I: one – table methods*.v. 4, n. 1, p. 05-09. June, 2004.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Micro-organismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. *Tópicos em Ciências do Solo*, Viçosa, v. 2, n. 2, p. 195-276, 2002.

VAN AARLE, I.M., & P.A. OLSSON. 2003. Fungal lipid accumulation and development of mycelial structures by two arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 69:6762-6767.

VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M., ed. *Biologia dos Solos dos Cerrados*. Planaltina: Embrapa- CPAC, 1997. p. 361-443.

VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M., ed. *Biologia dos Solos dos Cerrados*. Planaltina: Embrapa- CPAC, 1997. p.465-516.

VILELA, L.; MARTHA JÚNIOR, G. B.; MARCHÃO, R. L.; GUIMARÃES JÚNIOR, R. & BARCELLOS, A. O. Integração lavoura-pecuária. In: FALEIRA, F. G. & FARIAS NETO, A. L. *Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais*. Planaltina / Brasília: Embrapa Cerrados / Embrapa Informações Tecnológicas, 2008. cap. 30, p. 933-962.

ZAGO, V.C.P.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N.G. *Pseudomonas* spp. Fluorescentes – Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladoras de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 2000. 32p. (Embrapa-CNPAB.Documentos, 127).

WHITE, D.C., & D.B. RINGELBERG. Signature lipid biomarker analysis, p. 255-272, In: BURLAGE, R. S.; ATLAS, R.; STAHL, D.; GEESEY, G. SAYLER, G. *Techniques in microbial ecology*. Oxford University Press, New York. 1998.

WILKINSON, S.G. 1988. Gram-negative bacteria, p. 299-457. In: C. Ratledge and S. G. Wilkinson, eds. *Microbial lipids*, Vol. 1. Academic Press, San Diego.