



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**ATRIBUTOS QUÍMICOS, FÍSICOS E BIOLÓGICOS, ESTRUTURA DE  
COMUNIDADES BACTERIANAS E QUALIDADE DE SOLOS DE CERRADO SOB  
PLANTIO DIRETO E PREPARO CONVENCIONAL**

**LEANDRO MORAES DE SOUZA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA**

**BRASÍLIA/DF**

**MARÇO/2011**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**ATRIBUTOS QUÍMICOS, FÍSICOS E BIOLÓGICOS, ESTRUTURA DE  
COMUNIDADES BACTERIANAS E QUALIDADE DE SOLOS DE CERRADO SOB  
PLANTIO DIRETO E PREPARO CONVENCIONAL**

**LEANDRO MORAES DE SOUZA**

**ORIENTADOR: FÁBIO BUENO DOS REIS JUNIOR, PhD**  
**CO-ORIENTADORA: IÊDA DE CARVALHO MENDES, PhD**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA**

**PUBLICAÇÃO: 25/2011**

**BRASÍLIA/DF**  
**MARÇO/2011**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**ATRIBUTOS QUÍMICOS, FÍSICOS E BIOLÓGICOS, ESTRUTURA DE  
COMUNIDADES BACTERIANAS E QUALIDADE DE SOLOS DE CERRADO SOB  
PLANTIO DIRETO E PREPARO CONVENCIONAL**

**LEANDRO MORAES DE SOUZA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À FACULDADE DE AGRONOMIA  
E MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE  
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM  
AGRONOMIA NA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL**

**APROVADA POR:**

---

**CÍCERO CÉLIO DE FIGUEIREDO, Dr. Professor adjunto (UnB).**  
(Presidente da banca) CPF: 029.754.447-02; Email: cicerocf@unb.br

---

**WENCESLAU J. GOEDERT, PhD. Professor associado (UnB).**  
(Examinador interno) CPF: 005.799.550-87; Email: goedert@unb.br

---

**MARCELO FERREIRA FERNANDES, PhD. Pesquisador (Embrapa/CPATC).**  
(Examinador externo) CPF: 579.662.146-72; Email: marcelo@cpatc.embrapa.br

**BRASÍLIA/DF, 28 de Março de 2011.**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Souza, Leandro Moraes de

Atributos químicos, físicos e biológicos, estrutura de comunidades bacterianas e qualidade de solos de cerrado sob plantio direto e preparo convencional. / Leandro Moraes de Souza; orientação de Fábio Bueno dos Reis Junior; co-orientação de Ieda de Carvalho Mendes - Brasília, 2011.

183 p. :il.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2011.

1 – Cerrado. 2 – Manejo do solo. 3 – Qualidade do solo. 4 – Estrutura genética e metabólica. 5 – Bioindicadores. I. Reis Junior, F.B. II. PhD.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SOUZA, L.M. **Atributos químicos, físicos e biológicos, estrutura de comunidades bacterianas e qualidade de solos de cerrado sob plantio direto e preparo convencional.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2011, 183 p. Dissertação de Mestrado.

## CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Leandro Moraes de Souza

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO: Atributos químicos, físicos e biológicos, estrutura de comunidades bacterianas e qualidade de solos de cerrado sob plantio direto e preparo convencional.

GRAU: Mestre

ANO: 2011

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

---

Leandro Moraes de Souza

CPF: 726.766.711-20

SHCES. Quadra 407, Bl. "G", Aptº. 104. Cruzeiro Novo.

70650-477 Brasília/DF – Brasil

E-mail: leandroms83@yahoo.com.br (61) 8114 – 7548 / 3233-0070

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceder tudo o que preciso e muito mais. Por estar sempre presente em nossas vidas, nos norteando, protegendo e abençoando em todos os momentos.

A meus pais e irmão por todo amor, apoio, auxílio, paciência e dedicação, agradeço pela base familiar de compaixão, harmonia, perseverança e honestidade.

A Fernanda Rodrigues pelo apoio incondicional, carinho, amor e dedicação, como namorada, amiga e companheira, por todos os momentos de paciência, zelo e alegria.

A meu orientador, Dr. Fábio Bueno, agradeço pela oportunidade oferecida, pela confiança depositada e por todo incentivo durante o trabalho. Pelo exemplo de dedicação à pesquisa e disposição à orientação, pela paciência incansável, pelos ensinamentos e conselhos, como chefe e amigo.

A Dra. Ieda Mendes pela co-orientação, apoio e suporte a esta dissertação. Pelo exemplo de compromisso e amor ao trabalho. Agradeço por todo conhecimento compartilhado, por estar sempre presente e pela disposição em ajudar.

A Dra. Ângela Mehta pela orientação, paciência e ajuda nas etapas de sequenciamento.

Ao Dr. Djalma Martinhão pelos conselhos, incentivos e por todo auxílio sobre química do solo. Agradeço pelas sugestões e dedicação.

A Franciele Schlemmer e Milene Ribeiro, em 1º lugar, pela amizade e companhia, agradeço, também, pelo empenho e dedicação a este trabalho e pela ajuda em dezenas de DGGE's e análises de DNA.

A todos os amigos do Laboratório de Microbiologia, Lucas, Clodoaldo, Osmar, André, Eudaci, Layra, Alisson e Jéssica, pela amizade e por todo auxílio, desde a coleta até as análises em laboratório.

A Rafael Nunes pela dedicação e disposição, mesmo após o acidente, em ajudar nas análises por Bray. Agradeço pelo apoio e amizade estabelecida.

Aos amigos do Cenargen: Norma, Gabriela, Roberta, Rafael, Samia, Lílian e Thiago, por todo apoio, pela amizade e momentos de descontração.

Ao apoio financeiro do CNPq e FAP-DF.

Aos professores e funcionários da FAV, em especial, ao professor Wenceslau, por todo apoio e participação. Pelo exemplo de amor à pesquisa e ao ensino, de caráter e ética. A Dra. Lucrecia pelos direcionamentos e coordenação do curso e pelas contribuições.

Ao pesquisador Dr. Marcelo Fernandes e ao professor Dr. Cícero C. de Figueiredo pela disponibilidade em participar da banca e pelas contribuições.

A Embrapa Cerrados e UnB pela oportunidade e apoio.

A todos os amigos pelo apoio, força, incentivos e pelas contribuições com este trabalho.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS E HIPÓTESES.....</b>	<b>3</b>
2.1. Objetivo geral .....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
2.3. Hipóteses .....	3
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
3.1. Agricultura e solo.....	4
3.2. Sistemas de cultivo.....	4
3.3. Qualidade do solo.....	6
3.3.1. Indicadores de qualidade do solo .....	7
3.3.2. Bioindicadores de qualidade do solo .....	7
3.3.3. Diversidade microbiológica .....	9
3.3.4. Índice de qualidade dos solos.....	10
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>12</b>
<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>ATRIBUTOS QUÍMICOS, FÍSICOS E BIOLÓGICOS DE DOIS SOLOS DE CERRADO SOB PLANTIO DIRETO E PREPARO CONVENCIONAL .....</b>	<b>23</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>24</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
2.1. Descrição das áreas de estudo .....	27
2.2. Coleta das amostras.....	30
2.3. Análises químicas.....	31
2.4. Análises físicas.....	32
2.5. Análises biológicas .....	32
2.5.1. Estimativa da biomassa microbiana do solo .....	32
2.5.2. Isolamento e contagem de bactérias .....	33
2.5.3. Atividade enzimática do solo .....	34
2.5.3.1. $\beta$ -glicosidase .....	34
2.5.3.2. Fosfatase ácida .....	34
2.5.3.3. Arilsulfatase.....	35
2.6. Tratamento dos dados e análises estatísticas.....	35
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>36</b>
3.1. Atributos químicos .....	36
3.2. Atributos físicos .....	48
3.3. Atributos biológicos .....	52
3.3.1. Carbono da biomassa microbiana do solo.....	52
3.3.2. Estimativa do número total de bactérias do solo (contagem de unidades formadoras de colônias – UFC) .....	53
3.3.3. Atividade enzimática .....	55

3.3.3.1. $\beta$ -glicosidase .....	55
3.3.3.2. Fosfatase ácida:.....	56
3.3.3.3. Arilsulfatase:.....	57
3.3.4. Carbono da biomassa microbiana do solo .....	61
3.3.5. Estimativa do número total de bactérias do solo (contagem de unidades formadoras de colônias – UFC) .....	62
3.3.6. Atividade enzimática .....	63
3.3.6.1. $\beta$ -glicosidase .....	63
3.3.6.2. Fosfatase ácida .....	64
3.3.6.3. Arilsulfatase.....	65
3.4. Análise de componentes principais .....	70
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>78</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>78</b>
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>ESTRUTURA GENÉTICA E METABÓLICA DAS COMUNIDADES BACTERIANAS EM SOLOS DE CERRADO SOB PLANTIO DIRETO E PREPARO CONVENCIONAL E SUA RELAÇÃO COM ATRIBUTOS QUÍMICOS, FÍSICOS E BIOLÓGICOS DO SOLO .....</b>	
	<b>92</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>93</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>95</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>96</b>
2.1. Determinação do perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas.....	96
2.2. Extração de DNA de bactérias cultiváveis e diretamente do solo .....	98
2.3. Amplificação do gene 16S rDNA .....	99
2.4. Eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) .....	99
2.5. Clonagem e sequenciamento .....	100
2.6. Tratamento dos dados e análises estatísticas.....	101
2.6.1. Perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas.....	101
2.6.2. Estrutura das comunidades bacterianas.....	102
2.6.3. Relação entre estrutura genética, estrutura metabólica e os atributos químicos, físicos e biológicos .....	102
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>102</b>
3.1. Perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas .....	102
3.2. Estrutura genética das comunidades bacterianas.....	114
3.3. Identidade dos isolados bacterianos .....	120
3.4. Identidade das bandas recortadas de perfis de DGGE .....	133
3.5. Relação entre estrutura genética, estrutura metabólica e os atributos químicos, físicos e biológicos. ....	144
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>147</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>148</b>

<b>CAPÍTULO 3</b>	
<b>QUALIDADE DE SOLOS DE CERRADO, SOB PLANTIO DIRETO E PREPARO CONVENCIONAL, AVALIADAS A PARTIR DE ATRIBUTOS QUÍMICOS, FÍSICOS E BIOLÓGICOS, COM AUXÍLIO DO SOFTWARE SIMOQS .....</b>	<b>165</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>166</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>168</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>169</b>
2.1. Índice de qualidade dos solos .....	169
2.2. Tratamento dos dados e análises estatísticas.....	174
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>174</b>
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>181</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>181</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

**Figura 1:** Imagem do experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, obtida com auxílio do software Google Earth.....29

**Figura 2:** Imagem do experimento sob Latossolo Vermelho, obtida com auxílio do software Google Earth. ....30

**Figura 3:** Análises de componentes principais (PCA) representando a distribuição dos tratamentos no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo (2008), cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), de acordo com a variabilidade dos dados das propriedades dos solos consideradas na matriz primária. ....72

**Figura 4:** Análises de componentes principais (PCA) representando a distribuição dos tratamentos no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo (2009), cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), de acordo com a variabilidade dos dados das propriedades dos solos consideradas na matriz primária. ....73

**Figura 5:** Análises de componentes principais (PCA) representando a distribuição dos tratamentos no experimento sob Latossolo Vermelho cultivado com milho (2009), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubado com superfosfato triplo (ST) e fosfato natural reativo (FNR), de acordo com as similaridades nas propriedades dos solos consideradas na matriz primária. ....76

**Figura 6:** Análises de componentes principais (PCA) representando a distribuição dos tratamentos no experimento sob Latossolo Vermelho cultivado com soja (2010), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubado com superfosfato triplo (ST) e fosfato natural reativo (FNR), de acordo com as similaridades nas propriedades dos solos consideradas na matriz primária. ....77

### CAPÍTULO 2

**Figura 1:** Foto de uma microplaca EcoPlate™.....97

**Figura 2:** Esquema demonstrando a localização das 31 fontes de carbono diferentes em uma microplaca EcoPlate™ .....98

**Figura 3:** Cuba de eletroforese vertical BioRad DCode System - Universal Mutation Detection System. ....100

**Figura 4:** Estrutura funcional das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com milho e soja (ano 2008) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), determinada pelo perfil metabólico em microplacas Biolog EcoPlate™ (Análise de NMS - “Non-metric Multidimensional Scalling”). .104

**Figura 5:** Estrutura funcional das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com milho e soja (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), determinada pelo perfil metabólico em microplacas Biolog EcoPlate™ (Análise de NMS - “Non-metric Multidimensional Scalling”). .105

**Figura 6:** Estrutura funcional das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho cultivado com milho (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubado com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST), determinada pelo perfil metabólico em microplacas Biolog EcoPlate™ (Análise de NMS - “Non-metric Multidimensional Scalling”).....110

**Figura 7:** Estrutura funcional das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho cultivado com soja (ano 2010) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubado com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST), determinada pelo perfil metabólico em microplacas Biolog EcoPlate™ (Análise de NMS - “Non-metric Multidimensional Scalling”).....111

**Figura 8:** Dendrograma de similaridade da estrutura das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho Amarelo sob Cerrado nativo e cultivado com milho e soja, safras 2008 (A) e 2009 (B), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), gerado pelo algoritmo UPGMA e matriz de similaridade de Jaccard a partir dos dados obtidos da análise de DGGE. ....116

**Figura 9:** Dendrograma de similaridade da estrutura das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho sob Cerrado nativo e cultivado em 2009 com milho (A) e em 2010 com soja (B), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubado com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST), gerado pelo algoritmo UPGMA e matriz de similaridade de Jaccard a partir dos dados obtidos da análise de DGGE. ....119

**Figura 10:** Bandas de DGGE selecionadas para sequenciamento em amostras coletadas em 2008 no experimento sob Latossolo Vermelho-Amarelo. M = marcador (16S DNAr): M I: *Sinorhizobium fredii*; M II: *Rhizobium tropici* IIA; M III: *Burkholderia* sp.; M IV: *Azospirillum brasilense*; MPD = Milho PD; MPC = Milho PC; SPD = Soja PD; SPC = Soja PC; CER = Cerrado nativo.....135

**Figura 11:** Bandas de DGGE selecionadas para sequenciamento em amostras coletadas em 2009 no experimento sob Latossolo Vermelho-Amarelo. M = marcador (16S DNAr): M I: *Sinorhizobium fredii*; M II: *Rhizobium tropici* IIA; M III: *Burkholderia* sp.; M IV: *Azospirillum brasilense*; MPD = Milho PD; MPC = Milho PC; SPD = Soja PD; SPC = Soja PC; CER = Cerrado nativo.....137

**Figura 12:** Bandas de DGGE selecionadas para sequenciamento em amostras coletadas em 2009, sob a cultura do milho, no experimento sob Latossolo Vermelho. M = marcador (16S DNAr): M I: *Sinorhizobium fredii*; M II: *Rhizobium tropici* IIA; M III: *Burkholderia* sp.; M IV: *Azospirillum brasilense*; FNRPD = Fosfato natural reativo PD; FNRPC = Fosfato natural reativo PC; STPD = Superfosfato triplo PD; STPC = Superfosfato triplo PC; CER = Cerrado nativo;.....139

**Figura 13:** Bandas de DGGE selecionadas para sequenciamento em amostras coletadas em 2010, sob a cultura da soja, no experimento sob Latossolo Vermelho. M = marcador (16S DNAr): M I: *Sinorhizobium fredii*; M II: *Rhizobium tropici* IIA; M III: *Burkholderia* sp.; M IV: *Azospirillum brasilense*; FNRPD = Fosfato natural reativo PD; FNRPC = Fosfato natural reativo PC; STPD = Superfosfato triplo PD; STPC = Superfosfato triplo PC; CER = Cerrado nativo.....141

### CAPÍTULO 3

**Figura 1:** Exemplo da estrutura de um modelo no SIMOQS. ....170

**Figura 2:** Estrutura de modelo e pesos numéricos associados aos indicadores e às funções do solo para determinação do IQS referente aos modelos que têm o Cerrado como referência. ....171

**Figura 3:** Estrutura de modelo e pesos numéricos associados aos indicadores e às funções do solo para determinação do índice de qualidade do solo (IQS) referente ao modelo “culturas anuais”. ....172

**Figura 4:** Índices de qualidade do solo (IQS) calculados com o SIMOQS para as áreas sob Latossolo Vermelho Amarelo, cultivadas em 2008 e 2009, com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), obtidos partir do modelo “culturas anuais” (Figura 3) e tendo como referência valores para áreas agrícolas (Tabela 1).....175

**Figura 5:** Índice de qualidade do solo (IQS) calculados com o SIMOQS para as áreas sob Latossolo Vermelho, adubadas com superfosfato triplo (ST) e fosfato natural reativo (FNR), cultivadas em 2009 com milho e 2010 com soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), obtidos partir do modelo “culturas anuais” (Figura 3) e tendo como referência os valores para áreas agrícolas (Tabela 1).....176

**Figura 6:** Sistema de organização teórico proposto por Conceição et al. (2005), para a ordenação da qualidade do solo.....177

**Figura 7:** Índice de qualidade do solo (IQS) calculados com o SIMOQS para as áreas sob Latossolo Vermelho Amarelo, cultivadas em 2008 e 2009, com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), obtidos partir do modelo “Cerrado” (Figura 2) e tendo como referência os valores da área nativa deste solo (Tabela 1).....178

**Figura 8:** Índice de qualidade do solo (IQS) calculados com o SIMOQS para as áreas sob Latossolo Vermelho, adubadas com superfosfato triplo (ST) e fosfato natural reativo (FNR), cultivadas em 2009 com milho e 2010 com soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), obtidos a partir do modelo “Cerrado” (Figura 2) e tendo como referência os valores da área nativa deste solo (Tabela 1).....179

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>23</b>
<b>Tabela 1:</b> Propriedades químicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho Amarelo sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2008. ....	39
<b>Tabela 2:</b> Propriedades químicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho Amarelo sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2009. ....	40
<b>Tabela 3:</b> Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos químicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2008. ....	41
<b>Tabela 4:</b> Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos químicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2009. ....	41
<b>Tabela 5:</b> Propriedades químicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho (ano 2009), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST). ....	45
<b>Tabela 6:</b> Propriedades químicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com soja (ano 2010) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST). ....	46
<b>Tabela 7:</b> Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos químicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com milho (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST). ....	47
<b>Tabela 8:</b> Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos químicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com soja (ano 2010) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST). ....	47
<b>Tabela 9:</b> Propriedades físicas dos solos na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho Amarelo sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) ano de 2008. ....	49
<b>Tabela 10:</b> Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos físicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho	

Amarelo cultivado com milho e soja sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) ano de 2008.....50

**Tabela 11:** Propriedades físicas dos solos na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST). .....51

**Tabela 12:** Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos físicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com milho (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).....52

**Tabela 13:** Propriedades biológicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho-Amarelo sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho e soja sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2008. ....58

**Tabela 14:** Propriedades biológicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho-Amarelo sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho e soja sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2009. ....59

**Tabela 15** Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos biológicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2008.....60

**Tabela 16:** Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos biológicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2009.....60

**Tabela 17:** Propriedades biológicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho (ano 2009), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST). .....67

**Tabela 18:** Propriedades biológicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com soja (ano 2010), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST). .....68

**Tabela 19:** Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos biológicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com milho (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).....69

**Tabela 20:** Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos biológicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com soja (ano 2010) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).....69

**Tabela 1:** Índice de diversidade de Shannon (H) e riqueza de substratos (S), na profundidade 0 a 10 cm, com base na utilização de fontes de C presentes nas microplacas Biolog EcoPlate™ pela comunidade bacteriana do solo no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), nos anos de 2008 e 2009.. ....107

**Tabela 2:** Valores de F e respectivos níveis de significância, referentes ao índice de diversidade de Shannon e riqueza de substratos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) nos anos de 2008 e 2009. ....108

**Tabela 3:** Índice de diversidade de Shannon (H) e riqueza de substratos (S), na profundidade 0 a 10 cm, com base na utilização de fontes de C presentes nas microplacas Biolog EcoPlate™ pela comunidade bacteriana do solo no experimento sob Latossolo Vermelho, cultivado com milho (2009) e soja (2010), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST). .....113

**Tabela 4:** Valores de F e respectivos níveis de significância referentes ao índice de diversidade de Shannon e riqueza de substratos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com milho (2009) e soja (2010), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST). .....114

**Tabela 5:** Identidade das sequências parciais do 16S DNAr de isolados bacterianos de área sob Latossolo Vermelho-Amarelo (anos 2008 e 2009), selecionados do meio de cultura TSA 1/10, comparadas com seqüências depositadas no NCBI utilizando o programa BLAST para análises. ....124

**Tabela 6:** Identidade das sequências parciais do 16S DNAr de isolados bacterianos de área sob Latossolo Vermelho-Amarelo (anos 2008 e 2009), selecionados do meio de cultura King's B comparadas com seqüências depositadas no NCBI, utilizando o programa BLAST para análises. ....125

**Tabela 7:** Identidade das sequências parciais do 16S DNAr de isolados bacterianos de área sob Latossolo Vermelho (anos 2009 e 2010) selecionados do meio de cultura TSA 1/10 comparadas com seqüências depositadas no NCBI, utilizando o programa BLAST para análises. ....130

**Tabela 8:** Identidade das sequências parciais do 16S DNAr de isolados bacterianos de área sob Latossolo Vermelho (anos 2009 e 2010) selecionados do meio de cultura King's B comparadas com seqüências depositadas no NCBI, utilizando o programa BLAST para análises. ....132

**Tabela 9:** Identidade das sequências dos fragmentos de DNA (16S DNAr) obtidas a partir das bandas recortadas do DGGE da área sob Latossolo Vermelho-



# **ATRIBUTOS QUÍMICOS, FÍSICOS E BIOLÓGICOS, ESTRUTURA DE COMUNIDADES BACTERIANAS E QUALIDADE DE SOLOS DE CERRADO SOB PLANTIO DIRETO E PREPARO CONVENCIONAL**

## **RESUMO**

A agricultura brasileira tem apresentado grande desenvolvimento nas últimas décadas e a região do Cerrado desponta como a principal produtora de grãos do país. Infelizmente, o manejo inadequado do solo tem comprometido o potencial produtivo e o meio ambiente, diante disso, alternativas como o plantio direto (PD) têm sido utilizadas como propostas de manejos conservacionistas dos recursos naturais. A análise de atributos químicos, físicos e biológicos, assim como a avaliação da estrutura genética e o perfil metabólico das comunidades microbianas permite identificar alterações nas características originais dos solos e pode auxiliar a tomada de decisões sobre a utilização de manejos e práticas agrícolas mais adequadas. Este trabalho teve como objetivos avaliar o efeito do preparo do solo sobre atributos químicos, físicos e biológicos em áreas de rotação milho/soja; determinar e comparar o perfil genético e metabólico das comunidades bacterianas dos solos estudados; correlacionar os atributos químicos, físicos e biológicos com a estrutura das comunidades bacterianas de solos sob diferentes manejos; e utilizar os resultados de avaliações de atributos químicos, físicos e biológicos para análise da qualidade dos solos com base no programa SIMOQS. Foram coletadas amostras de solo na profundidade de 0-10 cm em um Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com milho e soja, sob PD e PC, e em um Latossolo Vermelho cultivado com milho e soja, sob PD e PC e adubado com duas fontes de fósforo, superfosfato triplo e fosfato natural reativo. Áreas de cerrado nativo, adjacentes aos experimentos, foram utilizadas como referência das condições originais dos solos. De maneira geral, solos sob PD apresentaram melhores resultados nas análises químicas, físicas e biológicas que aqueles sob PC. A análise de componentes principais agrupou e diferenciou os solos de acordo com o manejo utilizado e a atividade enzimática, principalmente da arilsulfatase, demonstrou ser um indicador sensível às práticas agrícolas. Os manejos avaliados alteraram a estrutura genética e o perfil metabólico das comunidades bacterianas, que se correlacionaram com os atributos químicos,

físicos e biológicos dos solos. As metodologias dependentes e independentes de cultivo utilizadas para identificação de indivíduos predominantes das comunidades bacterianas forneceram informações diferentes e, portanto, sua utilização em conjunto permitiu melhor caracterização dessas populações. Nos três modelos propostos neste estudo para o SIMOQS, as áreas cultivadas sob PD apresentaram os maiores índices de qualidade dos solos quando comparadas a áreas sob preparo convencional.

**Termos de indexação:** Cerrado, manejo do solo, qualidade do solo, estrutura genética e metabólica, bioindicadores.

# **STRUCTURE OF BACTERIAL COMMUNITIES, CHEMICAL, PHYSICAL AND BIOLOGICAL PARAMETERS AND QUALITY OF CERRADO SOILS UNDER TILLAGE AND NO TILL**

## **ABSTRACT**

The Brazilian agriculture has presented a big development in last decades when the Cerrado region emerged as a major grain producer. Unfortunately, improper soil management has reduced the productive potential and harming the environment. Nevertheless, alternatives such no-tillage (NT) have been used as proposals for conservation management of natural resources. The analysis of chemical, physical and biological parameters as well as the evaluation of the genetic structure and metabolic profiles of microbial communities can identify changes in the original characteristics of the soil and help making decisions about the use of more appropriate soil management and farming practices. This study aimed to evaluate the effect of tillage on the chemical, physical and biological parameters in areas with corn/soybean rotation; to determine and compare the genetic and metabolic profile of bacterial communities in the studied soils; to correlate the chemical, physical and biological parameters with the structure of bacterial communities in soils under different management; and to use the analytical results of chemical, physical and biological parameters to analyse the soil quality based on the SIMOQS software. Samples were collected at a depth of 0-10 cm in a clayey Typic Haplustox soil planted with corn and soybean under conventional till (CT) and NT systems and in an Oxisol planted with corn and soybean under NT and CT fertilized with two phosphate sources, triple superphosphate and reactive phosphate rock. Areas of native vegetation, adjacent to the experiments, were used as reference to the original conditions of the soil. In general, NT soils had better results in the chemical, physical and biological properties than those under CT. The principal component analysis grouped and separated the areas according to management, and enzyme activity, especially of arylsulfatase, proved to be a sensitive indicator of changes imposed by different agricultural practices. The management changed the genetic structure and metabolic profile of the soil bacterial communities that were correlated with the chemical, physical and biological parameters. The cultivation dependent and independent methods used to identify predominant individuals within bacterial

communities have accessed different information and therefore their use together results in better characterization of these populations. In the three models proposed herein for SIMOQS, the cultivated areas under the NT presented higher rates of soil quality when compared to areas under CT.

Índex terms: Cerrado, soil management, soil quality, metabolic and genetic structure, bioindicators.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, sua distribuição tem início na região Sudeste, nos estados de Minas Gerais e São Paulo, estendendo-se para o Centro-Oeste, Norte e Nordeste, ocupando cerca de 24% de todo território brasileiro (Costa e Olszewski, 2008). Os solos deste bioma são altamente intemperizados, o que os torna ácidos, pobres em nutrientes e ricos em óxidos de ferro e alumínio. No entanto, a excelente estrutura física dos solos, juntamente com os avanços tecnológicos na agricultura, que têm ocorrido durante as últimas décadas, fez com que o Cerrado se tornasse a principal zona de produção de grãos do Brasil (Machado e Silva 2001).

Apesar da excepcional participação no cenário agrícola nacional, o desenvolvimento agrícola na região do Cerrado, muitas vezes, tem sido acompanhado do manejo inadequado do solo (Silva et al. 1994), sendo considerado como o grande responsável pela existência de áreas degradadas ou em processos de degradação (Dias e Griffith, 1998).

Os diferentes implementos disponíveis para o preparo do solo provocam alterações nas suas propriedades químicas, físicas e biológicas. Cada implemento trabalha o solo de maneira própria, alterando, de maneira diferenciada estas propriedades (Sá, 1998). A utilização intensiva e repetitiva destes equipamentos nas operações agrícolas é o grande responsável pela degradação acelerada e consequente perda de solo, água e nutrientes por erosão hídrica e eólica (Freitas, 1994).

A adoção de sistemas conservacionistas de manejo do solo como plantio direto (PD) tem-se apresentado como uma alternativa para contribuir com a sustentabilidade econômica e ambiental do agroecossistema (Silva et al., 2000 a). No Brasil, o Sistema de Plantio Direto teve seu início em 1972 nos estados do Paraná e Rio Grande do Sul. As primeiras experiências com o PD nos Cerrados se iniciaram ainda na década de 70, estendendo-se pela década de 80 (Plataforma Plantio Direto, 2001). Na década de 80 diversas pesquisas já mostravam que os benefícios deste sistema no solo podiam ser maiores. Dedecek et al. (1986) apontaram que a manutenção de uma vegetação de cobertura diminui tanto a

erosividade da chuva quanto a enxurrada, reduzindo significativamente as perdas de solo e de água.

No solo, existem diversas inter-relações entre os atributos químicos, físicos e biológicos que controlam os processos e os aspectos relacionados à sua variação no tempo e no espaço. Assim, qualquer alteração no solo pode alterar diretamente sua estrutura e sua atividade biológica e, conseqüentemente, sua fertilidade, com reflexos nos agroecossistemas (Brookes, 1995), podendo promover prejuízos à qualidade do solo e à produtividade das culturas. Diante disso, a variação desses atributos, determinada pelo manejo e uso do solo, e sua avaliação são importantes para o melhor manejo visando à sustentabilidade do sistema (Carneiro et al. 2009).

Atualmente, a agricultura moderna tem demandado uma crescente necessidade de identificar parâmetros que estimem, de modo eficiente e rápido, as modificações que ocorrem no solo. A qualidade de um solo pode ser mensurada através do uso de indicadores que compreendem os atributos que reproduzem o status ambiental ou a condição de sustentabilidade que o solo se encontra (Araújo e Monteiro, 2007).

Vários trabalhos compararam a qualidade de solos tropicais sob diferentes sistemas agrícolas, podendo-se destacar: Silva et al. (2000 b), Stone e Silveira (2001), D'Andréa et al. (2002), Goedert et al. (2002), Mendes et al. (2003), Oliveira et al. (2004) e Dufranc et al. (2004). Tem-se observado que a qualidade do solo é superior em sistemas em que a sua mobilização é pequena (Costa et al. 2006).

Embora menos evidente, a diversidade microbiana é tão importante quanto à diversidade de plantas e animais. Quanto maior a diversidade, maior a estabilidade do ecossistema e mais eficiente o uso dos recursos disponíveis sendo menor o gasto de energia para sustentar a biomassa ali presente (Tótola e Chaer, 2002). A diversidade microbiana estaria, portanto, relacionada a um efeito “tampão” do solo contra estresses ambientais naturais ou causados pelo homem. Para um determinado solo, as avaliações de diversidade envolvem aspectos genéticos (número e ou riqueza de genomas) e funcionais (variedade de funções de decomposição, transformação de nutrientes, promoção/supressão do crescimento de plantas, etc), sendo de extrema importância a compreensão destas características.

## **2. OBJETIVOS E HIPÓTESES**

### **2.1. Objetivo geral**

Analisar a estrutura, genética e metabólica, das comunidades bacterianas, o uso de indicadores e a qualidade de solos do Cerrado sob plantio direto e preparo convencional.

### **2.2. Objetivos específicos**

1. Avaliar o efeito do manejo do solo sobre atributos químicos, físicos e biológicos em áreas de rotação milho/soja;
2. Determinar e comparar o perfil genético e metabólico das comunidades bacterianas dos solos estudados;
3. Correlacionar os resultados dos atributos químicos, físicos e biológicos com as alterações promovidas na estrutura das comunidades bacterianas de solos sob diferentes manejos;
4. Avaliar a qualidade dos solos com base no programa SIMOQS (Sistema de Monitoramento da Qualidade do Solo - UFV) a partir das avaliações dos atributos químicos, físicos e biológicos.

### **2.3. Hipóteses**

1. Solos sob diferentes práticas de manejo agrícola apresentam distintas propriedades químicas, físicas e biológicas.
2. Diferentes práticas de manejo agrícola alteram a estrutura genética e metabólica das comunidades bacterianas do solo.
3. Alterações na diversidade bacteriana estão correlacionadas com outros atributos químicos, físicos ou biológicos do solo.
4. É possível agregar dados químicos, físicos e biológicos para criar um índice de qualidade do solo com o auxílio do programa SIMOQS.

### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1. Agricultura e solo**

A agricultura brasileira experimentou grande desenvolvimento durante os últimos 100 anos, obtendo aumentos significativos na produtividade de grande número de culturas, notadamente nas últimas três décadas. Isto se deveu a inovações tecnológicas e a difusão do uso dessas técnicas (Lopes e Guilherme, 2007). O esforço conjunto da pesquisa agropecuária, as ações da assistência técnica e extensão rural, a ampliação do sistema de crédito rural e a participação dos produtores rurais e da agroindústria produziram um fenômeno interno, conhecido como “primeiro ciclo da revolução da agricultura tropical no Brasil”, e a ocupação do Cerrado foi uma das principais conquistas desse ciclo (Crestana e Sousa, 2008).

O uso sustentável dos recursos naturais, especialmente do solo e da água, tem-se constituído em tema de crescente relevância, em razão do aumento das atividades antrópicas. Conseqüentemente, cresce a preocupação com o uso sustentável e a qualidade desses recursos (Araújo et al., 2007).

O solo é um corpo dinâmico, vivo e natural com funções fundamentais nos ecossistemas terrestres. Os componentes do solo incluem a matéria mineral inorgânica (areia, sedimentos e partículas de argila), matéria orgânica, água, gases, e organismos vivos e há um contínuo intercâmbio de moléculas e íons entre as fases sólida, líquida e gasosa que são mediados pelos processos químicos, físicos e biológicos (Doran et al., 1994). Em síntese, o solo é o resultado das combinações entre o clima, os organismos, o material de origem e o tempo, sendo considerado como o substrato principal da produção de alimentos e uma das principais fontes de nutrientes e sedimentos que vão para os rios, lagos e mares. (Resende et al., 2007).

#### **3.2. Sistemas de cultivo**

Os diferentes sistemas de cultivo promovem diferentes graus de mobilização do solo, causando alteração nas propriedades físicas e químicas que afetam os

microrganismos, como por exemplo, bactérias, fungos e actinomicetos (Pfüller et al. 2000). A desestruturação do solo, a compactação e a redução nos teores de matéria orgânica são considerados os principais indutores da degradação das terras agrícolas. Tal degradação, com todas as suas implicações e conseqüências, tem resultado no desafio de viabilizar sistemas de produção que possibilitem maior eficiência energética e conservação ambiental, criando-se novos paradigmas tecnológicos baseados na sustentabilidade (Kluthcouski et al., 2000).

Até pouco tempo atrás, a produção agrícola brasileira tinha como principal sistema de cultivo o preparo convencional (PC), que consiste em revolver o solo antes do plantio visando incorporar insumos e controlar ervas daninhas (Nunes, 2010), tendo como característica marcante a utilização de arados e grades no preparo do solo, especialmente a grade aradora, que diminui a estabilidade dos agregados e pode levar a sua destruição (Reinert et al., 1984). Esse sistema demonstrou-se insustentável, principalmente em virtude das elevadas taxas de erosão hídrica, resultantes das chuvas que encontravam o solo desnudo (Nunes, 2010).

A semeadura direta, com apenas um pequeno preparo na linha de semeadura, que surgiu como uma simples técnica de manejo com o objetivo básico de controle da erosão hídrica do solo, evoluiu para um sistema complexo e ordenado de produção agrícola, denominado, no Brasil, de sistema de plantio direto (PD). A sua adoção nos agroecossistemas tropicais e subtropicais, em substituição à agricultura em terra nua, tem-se caracterizado como um investimento na preservação dos recursos naturais e sócio-econômicos (Muzilli, 2002). Sob a ótica sistêmica, o PD combina práticas biológico-culturais com práticas mecânico-químicas, pressupondo alguns requisitos básicos que envolvem a condição prévia do terreno, o não-revolvimento do solo, o uso de rotação de culturas e a adoção de métodos integrados de controle de plantas invasoras, de pragas e de doenças (Anghinoni, 2007). Em síntese, o PD constitui uma ferramenta da agricultura conservacionista capaz de viabilizar o ato de semear sem preparo prévio do solo. Em conseqüência, esse conjunto de tecnologias requer menor infra-estrutura de máquinas e de equipamentos, demanda menor força de trabalho e menos energia fóssil, beneficia a atividade biológica do solo, favorece o controle biológico, minimiza a erosão, otimiza a utilização de fertilizantes, instiga os processos de floculação e de agregação do solo e o desenvolvimento de sua estrutura, reduz a taxa de

mineralização da matéria orgânica e desacelera a taxa de ciclagem ou reciclagem de nutrientes, estabelecendo sincronismo com a taxa de crescimento das formas de vida presentes (Denardin et al., 2008).

Vários estudos têm demonstrado os efeitos do PD sobre as propriedades físicas (Karlen et al., 1994; Kushwaha et al., 2001; Peixoto et al., 2006), químicas (Doran, 1980; Angers et al., 1993; Ekenler e Tabatabai, 2003) e biológicas (Alvarez et al., 1998; Matsuoka et al., 2003; Franchini et al., 2007) do solo, sendo que, na maioria das vezes, tais efeitos são favoráveis (Brady e Weil, 2002).

### **3.3. Qualidade do solo**

É cada vez mais difícil conceber a idéia de competitividade e sustentabilidade dissociada de garantia de qualidade. Esse conceito de qualidade tem sido corriqueiramente utilizado para produtos comerciais, para o ar, etc., e mais recentemente, para solos. Contudo, definir a qualidade do solo tem sido uma tarefa difícil, uma vez que ela depende das características intrínsecas do solo, de suas interações com o ecossistema e de seu uso para diversos fins (Goedert e Oliveira, 2007).

O conceito de qualidade do solo é relativamente novo, com grandes controvérsias e não tão bem estabelecido na percepção científica (Pierzynski et al., 2000). A definição mais difundida de qualidade do solo foi proposta por Doran e Parkin (1994), que a conceituaram como sendo a capacidade de esse recurso exercer várias funções, dentro dos limites do uso da terra e do ecossistema, para sustentar a produtividade biológica, manter ou melhorar a qualidade ambiental e contribuir para a saúde das plantas, dos animais e humana.

Um dos desafios atuais da pesquisa é como avaliar a qualidade de um solo de maneira simples e confiável. De acordo com Seybold et al., (1997), o solo tem propriedades químicas, físicas e biológicas que interagem de maneira complexa, determinando sua qualidade e capacidade de uso. Dessa forma, a qualidade do solo pode ser inferida a partir das mudanças avaliadas nos seus atributos ou nos atributos do ecossistema, conhecidos como indicadores.

### **3.3.1. Indicadores de qualidade do solo**

Um indicador pode ser simplesmente uma variável mensurável, a exemplo da temperatura do solo; um processo, como a taxa de mineralização de nitrogênio; ou uma construção complexa de variáveis múltiplas, como um índice, o qual inclui inúmeras medidas do solo, tais como densidade, uniformidade de agregados, matéria orgânica e outros (Burger e Kelting, 1999).

De acordo com Goedert e Oliveira (2007), a escolha de indicadores deve considerar, dentre outros, os seguintes aspectos: facilidade de medição, resposta a mudanças, limite claro entre condições de sustentabilidade e relação direta com requerimentos de qualidade do solo, além disso, dois enfoques têm sido geralmente propostos para se estabelecerem critérios de referência para determinar os limites de sustentabilidade: condição de solo nativo e condições de solo que maximizem a produção e conservem o ambiente.

De acordo com Chaer (2001), um dos obstáculos para avaliar a qualidade do solo é a interpretação dos seus indicadores, ou seja, saber quando é que os valores obtidos indicam um bom solo. Atualmente, existe na literatura uma grande quantidade de informações acerca dos indicadores de caráter químico e físico que permite, com certo grau de confiabilidade, definir faixas de valores adequados para essas características em diversos tipos de solos e culturas. No entanto, apesar do crescente número de trabalhos envolvendo a análise de indicadores microbiológicos, a base de informação disponível para essas características ainda é pouco consistente para se fazer uma interpretação adequada e para se definir valores ótimos em diferentes situações. As principais causas estão no fato dos testes microbiológicos não serem incluídos em análises de solo de rotina e a falta de padronização de métodos desde a amostragem, estocagem e pré-tratamento das amostras até os procedimentos analíticos e a apresentação dos resultados (Stenberg, 1999).

### **3.3.2. Bioindicadores de qualidade do solo**

A avaliação de atributos biológicos do solo é adequada à maioria dos critérios para a seleção de um indicador de qualidade (Doran e Zeiss, 2000). A capacidade

de responder rapidamente a mudanças no ambiente do solo derivadas das alterações no manejo justifica o uso de microrganismos e processos microbiológicos como indicadores de qualidade do solo (Kennedy e Papendick, 1995). Alguns trabalhos avaliaram variáveis microbiológicas e identificaram que estas foram mais sensíveis em detectar os efeitos de diferentes manejos do solo do que as variáveis físicas e químicas, utilizando como referência vegetações nativas (Chaer e Tótola, 2007; Silva et al., 2009).

A biomassa microbiana é um importante componente na avaliação da qualidade do solo, pois atua nos processos de decomposição natural interagindo na dinâmica dos nutrientes e regeneração da estabilidade dos agregados (Franzluebbers et al., 1999; Perez et al., 2004), além disso, participa dos processos de formação do solo (intemperização das rochas) e na biorremediação de poluentes e metais pesados (Reis Jr. e Mendes, 2007). Entretanto, determinações da biomassa microbiana não fornecem indicações sobre os níveis de atividade das populações microbianas do solo, ou seja, podem ocorrer situações em que os solos apresentem elevadas quantidades de biomassa inativa e vice-versa. Daí a importância das análises que medem a atividade microbiana ou o estado metabólico atual e potencial das comunidades de microrganismos do solo. Dentre essas, destaca-se a determinação de atividade de diversas enzimas dos solos (Mendes e Reis Jr., 2004).

As enzimas do solo participam das reações metabólicas intercelulares, responsáveis pelo funcionamento e pela manutenção dos seres vivos e também desempenham papel fundamental atuando como catalisadoras de várias reações que resultam na decomposição de resíduos orgânicos (ligninases, celulasas, proteases, glucosidases, galactosidases), ciclagem de nutrientes (fosfatases, amidases, urease, sulfatase), formação da matéria orgânica e da estrutura do solo (Mendes e Vivaldi, 2001).

Os atributos microbiológicos têm sido amplamente discutidos na literatura como indicadores de qualidade (Sparling, 1992; Angers et al., 1993; Kennedy e Papendick, 1995, Trindade et al., 2000; Tótola e Chaer, 2002; Matsuoka et al., 2003; Costa et al., 2006; Franchini et al., 2007, Araújo e Monteiro, 2007; Silva et al., 2009).

### **3.3.3. Diversidade microbiológica**

Apesar de sua importância, o solo ainda tem sido considerado um dos habitats menos estudados do planeta e apenas recentemente começou-se a entender que sua biodiversidade é fator crucial na regulação e no funcionamento dos ecossistemas (Copley, 2000).

As avaliações de diversidade microbiana fornecem indicativos sobre a variedade e a variabilidade, em termos de número (riqueza) e abundância (equitatividade) de espécies presentes em um determinado solo. O advento de técnicas moleculares tem permitido identificar que o número de espécies microbianas presentes no solo é bastante superior ao estimado com base em técnicas tradicionais de cultivo em placa (Ward et al., 1990). Só para se ter uma idéia, Roesch et al. (2007) encontraram até 53533 diferentes sequências de DNA de bactérias em um grama de solo e, baseados nos resultados desse mesmo trabalho, esses autores também sugerem que o manejo dos solos possa influenciar significativamente a diversidade dessas bactérias.

Métodos que avaliem o perfil de comunidades, como o de DGGE ("denaturing gradient gel electrophoresis" - eletroforese em gel de gradiente desnaturante) que utiliza um gradiente químico de desnaturação formado por uréia e formamida, são adequados para estudar a estrutura genética das comunidades microbianas. Esta técnica é baseada na amplificação dos fragmentos de DNA por PCR (Polymerase Chain Reaction – Reação em Cadeia da Polimerase) e eletroforese em um gel de poliacrilamida com um gradiente de desnaturação, onde é possível separar fragmentos de DNA de mesmo tamanho, mas com diferentes sequências de bases (Muyzer et al., 1993). Um dos pontos mais fortes em favor da utilização da técnica de DGGE em ecologia microbiana é a possibilidade de análise simultânea de várias amostras, o que permite monitorar a dinâmica complexa da comunidade microbiana e suas flutuações sazonais ou após perturbações ambientais (Muyzer, 1999).

Tão importante quanto à diversidade genética, é a diversidade funcional dos microrganismos dos solos. Tótola e Chaer (2002) afirmaram que a importância das análises de diversidade funcional reside no fato de que, somente com base nas alterações na diversidade genética, não é possível inferir se algumas funções do solo foram perdidas ou não. As análises de diversidade funcional permitem uma melhor compreensão do funcionamento da comunidade microbiana, pois

possibilitam averiguar a presença de redundância funcional no solo, isto é, a existência de populações que desempenham um mesmo papel funcional. Parte da diversidade funcional dos microrganismos associados a solos sob diferentes manejos pode ser acessada através da análise do perfil metabólico das comunidades microbianas, que é definido pela quantidade, tipo e taxa de utilização de substratos de carbono. Esse perfil metabólico é uma consequência da diversidade genética, dos efeitos ambientais e das interações ecológicas entre diferentes populações. Essa análise tem sido feita com o auxílio de microplacas EcoPlate™, que possibilita a avaliação da utilização de diferentes fontes de carbono pela comunidade microbiana, constituindo-se num verdadeiro “fingerprint” destas comunidades. Vários estudos já demonstraram que, com a utilização das microplacas EcoPlate™, pode-se observar diferenças significativas na diversidade metabólica de comunidades oriundas de amostras de solo distintas (Zak et al., 1994).

Recentemente, vários estudos têm investigado a influência do manejo do solo sobre a estrutura genética (Peixoto et al., 2006; Pereira et al., 2007; Wu et al., 2008; Bresolin et al.; 2010; Peixoto et al., 2010) e metabólica (Lupwayi et al., 1998; Diosma et al., 2006; Lupwayi et al., 2007; Chaer et al., 2009; Lupwayi et al., 2010) das comunidades microbianas.

A utilização de clonagem seguida de sequenciamento é considerada uma metodologia interessante para a exploração da diversidade bacteriana em amostras naturais (Muyzer, 1999), assim, alguns estudos têm utilizado estas tecnologias para identificar bactérias cultivadas, isoladas de géis de eletroforese e a partir do DNA total de amostras de solo (Roesch et al., 2007; Quirino et al., 2009; Bresolin et al.; 2010),

### **3.3.4. Índice de qualidade dos solos**

De acordo com Chaer (2001), uma estratégia comumente sugerida para se avaliar um conjunto de indicadores de qualidade do solo, é o cálculo de um índice de qualidade. O índice constitui uma ferramenta para agregação e simplificação de informações de natureza diversa (Sands e Podmore, 2000), de modo que, neste caso, ele irá quantificar a qualidade do solo. Tais índices podem ser úteis para o

monitoramento do estado geral e para a identificação de práticas de manejo mais adequadas, constituindo-se uma ferramenta para buscar soluções técnicas que atuem diretamente nos atributos do solo que estão pesando negativamente no índice de qualidade (Chaer, 2001).

Os índices de qualidade do solo podem ser obtidos por meio de uma expressão ou modelo matemático que inclua os atributos do solo considerado. Assim, a soma dos efeitos dos atributos selecionados, que são determinantes da qualidade do solo de um dado ambiente, é expressa no índice de qualidade (Burguer e Kelting, 1999).

Chaer (2001) propôs alguns modelos que permitem estimar os índices de qualidade do solo sob as mais variadas condições. A partir disso, desenvolveu-se o Sistema de Monitoramento da Qualidade do Solo (SIMOQS), desenvolvido na Universidade Federal de Viçosa, em que o usuário, tendo em mãos um conjunto de dados obtidos a partir da análise de características químicas, físicas e biológicas, escolhe um modelo ajustado aos seus propósitos, adequando o modelo escolhido aos dados disponíveis (Chaer et al., 2004). De acordo com Silva (2008), o SIMOQS foi eficaz como ferramenta para o monitoramento da qualidade do solo em diferentes agroecossistemas, sendo que, através dos cálculos do índice de qualidade, foi possível observar benefícios do bom manejo das pastagens (principalmente quando em consórcio com leguminosas), da rotação lavoura/pastagem e do plantio direto.

A avaliação dos possíveis indicadores de qualidade e sua efetiva identificação são complicadas pela multiplicidade dos fatores químicos, físicos e biológicos que controlam os processos biogeoquímicos e suas variações no tempo, espaço e intensidade (Doran et al., 1994). Dessa maneira, técnicas estatísticas têm sido aplicadas para identificar e quantificar os indicadores que causam influência significativa sobre os resultados dos experimentos. As análises multivariadas são técnicas cada vez mais utilizadas para analisar conjuntos complexos de dados (Tabachnick e Fidell, 2007). De acordo com Sena et al. (2002), os pesquisadores da área de solos precisam se aperfeiçoar a respeito de métodos multivariados, os quais, comparados com métodos univariados e bivariados, ampliam a capacidade de extração e interpretação de dados das análises.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, C.R.; ALVAREZ, R.; GRIGERA, M.S.; LAVADO, R.S. Associations between organic matter fractions and the active soil microbial biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, v.30, p.767-773, 1998.

ANGERS, D.A.; BISSONNETTE, N.; LÉGÈRE, A.; SAMSON, N. Microbial and biochemical changes induced by rotation and tillage in a soil under barley production. **Canadian Journal of Soil Science**, v.73, p.39-50, 1993.

ANGHINONI, I.; XV – Fertilidade do solo e seu manejo em sistema plantio direto. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; (eds.) **Fertilidade do solo**. SBCS Viçosa, p.873 – 928, 2007.

ARAÚJO, R.; GOEDERT, W.J.; LACERDA, M.P.C.; Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31 p.1099 - 1108, 2007.

ARAÚJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R.; Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v.23, p.66 - 75, 2007.

BRADY, N.C.; WEIL, R.R. **The Nature and properties of soils**. Thirteenth ed. Prentice Hall, New Jersey, 960p. 2002.

BRESOLIN, J. D; BUSTAMANTE, M. M. C; KRÜGER, R. H; SILVA, M. R. S. S; PEREZ, K. S. Structure and composition of bacterial and fungal community in soil under soybean monoculture in the Brazilian Cerrado. **Brazilian Journal of Microbiology**; v.41, p.391-403, 2010.

BROOKES, P.C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, v.19, p.269 - 279, 1995.

BURGUER, J.A.; KELTING, D.L.; Using soil quality indicators to assess forest stand management. **Forest Ecology and Management**, v.122, p.155 – 166, 1999.

CARNEIRO, M.A.C.; SOUZA, E.D.; REIS, E.F.; PEREIRA, H.S.; AZEVEDO, W.R.; Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de Cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.147 - 157, 2009.

CHAER, G.M. **Modelo para determinação de índice de qualidade do solo baseado em indicadores físicos, químicos e microbiológicos**. (Dissertação de Mestrado) Viçosa/Departamento de Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, 100p. 2001.

CHAER, G.M.; TÓTOLA, M.R.; LOBATO, M.C.C. & Di LORIO, V.O. SIMOQS - Sistema de Monitoramento da Qualidade do Solo. **Manual do Usuário**. Versão 1.0 – 2004.

CHAER, G.M.; TÓTOLA, M.R.; Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.381-1396, 2007.

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 of America Journal**. v.73, p.1327 – 1334. 2009.

COSTA, E.A.; GOEDERT, W.J.; SOUSA, D.M.G.; Qualidade de solo submetido a sistemas de cultivo com preparo convencional e plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.1185-1191, 2006.

COSTA, L.M.; OLSZEWSKI, N.; **Caracterização da paisagem do Cerrado**. In: FALEIRO, F.G.; FARIA NETO, A.L.; (eds.) Savanas – Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais. Embrapa Cerrados, p. 363 – 378, 2008.

CRESTANA, S.; SOUSA, I.S.F.; Agricultura tropical no Brasil. In: ALBUQUERQUE, A.C.S.; SILVA, A.G.; (eds. técnicos) **Agricultura tropical. Quatro décadas de**

**inovações tecnológicas, institucionais e políticas**, Vol. 1. Brasília – DF: Embrapa Informação Tecnológica. p.41 – 99, 2008.

COPLEY, J. Ecology goes underground. **Nature**, v.406, p.452-454, 2000

D'ANDRÉA, A.F.; SILVA, M.L.N.; CURI, N.; SIQUEIRA, J.O.; CARNEIRO, M.A.C. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na Região do Cerrado do Sul do Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.913-923, 2002.

DEDECEK, R.A.; RESCK, D.V.S. & FREITAS, E. Perdas de solo, água e nutrientes por erosão em Latossolo Vermelho-escuro dos Cerrados em diferentes cultivos sob chuva natural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.10, p.265 - 272, 1986.

DENARDIN, J.E.; KOCHHANN, R.A.; BACALTCHUK, B.; SATTLER, A.; DENARDIN, N.D.; FAGANELLO, A.; WIETHÖLTER, S.; Sistema de plantio direto: fator de potencialidade da agricultura tropical brasileira. In: ALBUQUERQUE, A.C.S.; SILVA, A.G.; (eds. técnicos) **Agricultura tropical. Quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas**, Vol. 1. Brasília – DF: Embrapa Informação Tecnológica. p.1251 - 1273, 2008.

DIAS, L.E.; GRIFFITH, J.J.; Conceituação e caracterização de áreas degradadas. In: DIAS, L.E.; MELLO, J.W.V.; (Eds.). **Recuperação de áreas degradadas**. 1<sup>o</sup> ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998.

DIOSMA, G.; AULICINO, M.; CHIDICHIMO, H.; BALATTI, P.A.; Effect of tillage and N fertilization on microbial physiological profile of soils cultivated with wheat. **Soil & Tillage Research**, v.91, p.236–243, 2006.

DORAN, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society American 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., ed. Defining soil quality for a sustainable environment. **Soil Science Society of America**, p.107-124, 1994.

DORAN, J.W.; SARRANTONIO, M.; JANKE, R.; Strategies to promote soil quality and health. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R.; GRACE, P.R. (eds.). **Soil Biota Management in sustainable farming systems**. Commonwealth Scientific Industrial Research Organization, p.230 - 237, 1994.

DORAN, J.W. & ZEISS, M.R. Soil Health and sustainability; managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology**, v.15, p.3-11, 2000.

DUFRANC, G.; DECHEN, S.C.F.; FREITAS, S.S.; CAMARGO, O.A. Atributos físicos, químicos e biológicos relacionados com a estabilidade de agregados de dois latossolos em plantio direto no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.505-517, 2004.

EKENLER, M.; TABATABAI, M.A. Tillage and residue management effects on  $\beta$ -glucosaminidase activity in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 35, p.871-874, 2003.

FRANCHINI, J.C.; CRISPINO, C.C.; SOUZA, R.A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, v.92, n.1-2. p.18 - 29, 2007.

FRANZLUEBBERS, A.J.; HANEY, R.L.; HONS, F.M.; Relationships of chloroform fumigation-incubation to soil organic matter pools. **Soil Biology and Biochemistry**, v.31, p.395-405, 1999.

FREITAS, P. L. Aspectos físicos e biológicos do solo. In: LANDERS, J. N. (Ed.). **Fascículo de experiências de Plantio Direto no Cerrado**. Goiânia: APDC, p. 199-213, 1994.

GOEDERT, W.J.; OLIVEIRA, S.A.; XVIII – Fertilidade do solo e sustentabilidade da atividade agrícola. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; (eds.) **Fertilidade do solo**. SBCS Viçosa, p.991 – 1017, 2007.

GOEDERT, W.J.; SCHERMACK, M.J.; FREITAS, F.C. Estado de compactação do solo em áreas cultivadas no sistema de plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.223-227, 2002.

KARLEN, D.L.; WOLLENHAUPT, N.C.; ERBACH, D.C.; BERRY, E.C.; SWAN, J.B.; EASH, N.S. & JORDAHL, J.L. Long-term tillage effects on soil quality. **Soil & Tillage Research**, v.32, p.313-327, 1994.

KENNEDY, A.C.; PAPENDICK, R.I. Microbial characteristics of soil quality. **Journal of soil and water conservation**, v.50, p.243-248, 1995.

KLUTHCOUSKI, J.; FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D.; RIBEIRO, C.M.; FERRARO, L.A.; Manejo do solo e o rendimento de soja, milho, feijão e arroz em plantio direto. **Scientia agrícola**, v.57 p. 97-104, 2000.

KUSHWAHA, C.P.; TRIPATHI, S.K.; SINGH, K.P. Soil organic matter and waterstable aggregates under different tillage and residue conditions in a tropical dryland agroecosystem. **Applied Soil Ecology**, v.16, p.229-241, 2001.

LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; I – Fertilidade do solo e produtividade agrícola. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; (eds.) **Fertilidade do solo**. SBCS Viçosa, p.1 – 64, 2007.

LUPWAYI, N .Z.; RICE, W. A.; CLAYTON, G.W. Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. **Soil Biology & Biochemistry**. v.30, p.1733–1741, 1998.

LUPWAYI, N.Z.; HANSON, K.G.; HARKER, K.N.; CLAYTON, G.W.; BLACKSHAW, R.E.; O'DONOVAN, J.T.; JOHNSON, E.N.; GAN, Y.; IRVINE, R.B.; MONREAL, M.A.; Soil microbial biomass, functional diversity and enzyme activity in glyphosate-resistant wheat–canola rotations under low-disturbance direct seeding and conventional tillage. **Soil Biology & Biochemistry**, v.39, p.1418–1427, 2007.

LUPWAYI, N.Z.; GRANT, C.A.; SOON, Y.K.; CLAYTON, G.W.; BITTMAN, S.; MALHIE, S.S.; ZEBARTH, B.Z.; Soil microbial community response to controlled-release urea fertilizer under zero tillage and conventional tillage. **Applied Soil Ecology**, v.45, p.254 – 261. 2010.

MACHADO, P.L.O.A.; SILVA, C.A.; Soil management under no tillage systems in the tropics with special reference to Brazil. Nutrient **Cycling in Agroecosystems**, v.61, p.119 – 130, 2001.

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 Ciência do Solo**, v. 27, p.425-433, 2003.

MENDES, I.C.; REIS JR, F.B.; **Uso de Parâmetros Microbiológicos como indicadores para Avaliar a Qualidade do Solo e a Sustentabilidade de Agroecossistemas**. Planaltina – DF. Embrapa Cerrados, (Documentos/Embrapa Cerrados), 34p. 2004.

MENDES, I.C.; SOUZA, L.V.; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C. Propriedades biológicas em agregados de um Latossolo Vermelho- Escuro sob plantio convencional e direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.435-443, 2003.

MENDES, I.C.; VIVALDI, L.; Dinâmica da biomassa e atividade microbiana em uma área sob mata de galeria na região do DF. In: RIBEIRO, J.F.; FONSECA, C.E.L.; SOUSA-SILVA, J.C.; (Ed.). **Cerrado: caracterização e recuperação de Matas de Galeria**. Planaltina: Embrapa-CPAC, p. 664-687, 2001.

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

MUYZER, G. DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 2, p. 317-322, 1999.

MUZILLI, O.; O uso dos solos na Mata Araucária. In: ARAÚJO, Q.R.; (ed.) **500 anos de uso do solo no Brasil**. Ilhéus, Editus, p. 435 – 445, 2002.

NUNES, R.S.; **Distribuição do fósforo no solo sob dois sistemas de cultivos e diferentes manejos da adubação fosfatada**. (Dissertação de Mestrado), Universidade de Brasília – UnB, 88p. 2010.

OLIVEIRA, G.C.; DIAS JUNIOR, M.S.; RESCK, D.V.S.; CURI, N. Caracterização química e físico-hídrica de um Latossolo Vermelho após vinte anos de manejo e cultivo do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.327-336, 2004.

PEIXOTO, R.S.; COUTINHO, H.L.C; MADARI, B; MACHADO, P.L.O.A; RUMJANEK, N.G.; VAN ELSAS, J.D.; SELDIN,L.; ROSADO,A.S. Soil aggregation and bacterial community structure as affected by tillage and cover cropping in the Brazilian Cerrados. **Soil & Tillage Research**, v.90, p.16-28, 2006.

PEIXOTO, R. S.; CHAER, G. M.; FRANCO, N.; REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; ROSADO, A. S.; A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**. v.98, p.403 – 413. 2010.

PEREIRA, A. A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; KASCHUK, G.; CHUEIRA, L. M. O.; CAMPO, R. J.; TORRES, E.; Variações qualitativas e quantitativas na microbiota do solo e na fixação biológica de nitrogênio sob diferentes manejos com soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1397-1412, 2007.

PEREZ, K.S.S.; RAMOS, M.L.G.; MCMANUS, C.; Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.567-573, 2004.

PFÜLLER, E.E.; FRIES, M.R.; ANTONIOLLI, Z.I.; SANTOS, E.; PEREIRA, J.E.; CAMPOS, B.C.; SAMANIEGO, M.P.G.; **Dinâmica da População Microbiana sob Sistema de Plantio Direto e Convencional.**; In: Anais FERTBIO, Reunião Brasileira de Fertilidade do solo e nutrição de plantas, 24; Reunião Brasileira sobre Micorrizas, 8; Simpósio Brasileiro de Microbiologia do solo, 6; Reunião Brasileira de Biologia do solo, 3. Santa Maria. RS. 2000.

PIERZYNSKI, G.M.; SIMS, J.T.; VANCE, G.F. **Soil and environmental quality.** CRC Press. 2 ed. Boca Raton: Flórida, p.315-338, 2000.

PLATAFORMA PLANTIO DIRETO. **Introdução e histórico.** 2001. Disponível: <http://www.embrapa.br/plantiodireto/>. Acesso em: 10/12/2010.

QUIRINO, B. F.; PAPPAS, G. J.; TAGLIAFERRO, A. C.; COLLEVATTI, R. G.; NETO, E. L.; DA SILVA, M. R. S. S.; BUSTAMANTE, M. M. C.; KRÜGER, R. H. Molecular phylogenetic diversity of bacteria associated with soil of the savanna-like Cerrado vegetation. **Microbiological Research**, v.164, p.59-70, 2009.

REINERT, D.J.; MUTTI, L.S.M.; ZAGO, A.; AZOLIN, M.A.D. & HOFFMANN, C.L. Efeito de diferentes métodos de preparo do solo sobre a estabilidade de agregados em solo Podzólico Vermelho-Amarelo. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v.14, p.19-25, 1984.

REIS JR., F.B.; MENDES, I.C.; **Biomassa Microbiana do Solo.** Planaltina – DF. Embrapa Cerrados – (Documentos / Embrapa Cerrados), 40p. 2007.

RESENDE, M.; CURI, N.; REZENDE, S.B.; CORRÊA, G.F.; **Pedologia: Base para distinção de ambientes.** 5ª ed. Lavras – UFLA, 322p., 2007.

ROESCH, L.F.W.; FULTHORPE, R.R.; RIVA, A.; CASELLA, G.; HADWIN, A.K.M.; KENT, A.D.; DAROUB, S.H.; CAMARGO, F.A.O.; FARMERIE, W.G.; TRIPLETT, E.W. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. **International Society for Microbial Ecology**, v.1, p. 283-290, 2007.

SÁ, J.C.M. Reciclagem de nutrientes dos resíduos culturais, e estratégia de fertilização para a produção de grãos no sistema plantio direto. In: **Seminário sobre o sistema plantio direto na UFV**, 1. Resumo das palestras. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, p.19-61, 1998.

SANDS, G.R.; PODMORE, T.H.; A generalized environmental sustainability index for agricultural systems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v79, p.29 – 41, 2000.

SENA, M.M.; FRIGHETTO, R.T.S.; VALARINI, P.J.; TOKESHI, H.; POPPI, R.J. Discrimination of management effects on soil parameters by using principal component analysis: a multivariate analysis case study. **Soil & Tillage Research**, v.67, p.171-181, 2002.

SEYBOLD, C.A., MAUSBACH, M.J.; KARLEN, D.L.; ROGERS, H.H.; Quantification of soil quality. In: LAL, R.; KIMBLE, J.M.; FOLLET, R.F.; STEWART, B.A.; (eds.). **Soil processes and the carbon cycle**. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, p.387-404, 1997.

SILVA, J.E.; LEMAINSKI, J.; RESK, D.V.S.; Perdas de matéria orgânica e suas relações com a capacidade de troca catiônica em solos da região dos Cerrados do oeste baiano. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.18, p.541 – 547, 1994.

SILVA, L.G.; **Uso e monitoramento de indicadores microbiológicos para avaliação da qualidade dos solos de cerrado sob diferentes agroecossistemas**. (Dissertação de Mestrado) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 137p. 2008.

SILVA, L.G.; MENDES, I.C.; REIS JR., F.B.; FERNANDES, M.F.; MELO, J.T.; KATO, E.; Atributos físicos, químicos e biológicos de um Latossolo de cerrado em plantio de espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.613-620, 2009.

SILVA, M.L.N.; CURI, N.; BLANCANEUX, P. Sistemas de manejo e qualidade estrutural de Latossolo Roxo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.2485 - 2492, 2000 (b).

SILVA, V.R.; REINERT, D.J. & REICHERT, J.M. Densidade do solo, atributos químicos e sistema radicular do milho afetados pelo pastejo e manejo do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.24, p.191 - 199, 2000 (a).

SPARLING, G.P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. **Australian Journal of Soil Research**, v.30, p.195-207, 1992.

STENBERG, B.; Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. **Soil and Plant Science**, v.49, p.1 – 24, 1999.

STONE, L.F.; SILVEIRA, P.M.; Efeitos do sistema de preparo e da rotação de culturas na porosidade e densidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.395 - 401, 2001.

TABACHNICK, B.G.; FIDELL, L.S.; **Using multivariate statistics**. 5.ed. Boston: Pearson Allyn & Bacon. 980p, 2007.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V.H; SCHAEFER, C.E.G.R; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (eds) **Tópicos em Ciência do Solo**, Vol. 2. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.195-276 . 2002.

TRINDADE, A.V.; GRAZZIOTTI, P.H.; TÓTOLA, M.R. Utilização de características microbiológicas na avaliação da degradação ou recuperação de uma área sob mineração de ferro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p.683-688, 2000.

WARD, D.M.; WELLER, R.; BATESON, M.M.; 16S rDNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. **Nature**. v.345, p.63 – 65. 1990.

WU, T.; CHELLEMI, D.O.; GRAHAM, J.H.; MARTIN, K.J.; ROSSKOPF, E.N.; Comparison of soil bacterial communities under diverse agricultural land management and crop production practices. **Microbial Ecology**, v.55, p.293–310, 2008.

ZAK, J.C.; WILLIG, M.R.; MORRHEAD, D.L. WILDMAN, H.G. Functional diversity o microbial communities: a quantitative approach. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1101-1108, 1994.

**CAPÍTULO 1**  
**ATRIBUTOS QUÍMICOS, FÍSICOS E BIOLÓGICOS DE DOIS SOLOS DE**  
**CERRADO SOB PLANTIO DIRETO E PREPARO CONVENCIONAL**

## RESUMO

O crescimento populacional e a demanda por alimentos e matérias-primas de origem agrícola pressionam o meio ambiente, e o manejo do solo apresenta papel preponderante para o desenvolvimento sustentável. Entre as estratégias conservacionistas tem-se destacado o uso do plantio direto (PD), prática que visa proteger a superfície do solo e diminuir os impactos de seu revolvimento. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do PD e o preparo convencional (PC) sobre características químicas, físicas e biológicas em dois experimentos de longa duração. Foram coletadas amostras de solo na profundidade de 0-10 cm em um Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com milho e soja, sob PD e PC, e em um Latossolo Vermelho cultivado com milho e soja, sob PD e PC e adubado com duas fontes de fósforo, superfosfato triplo e fosfato natural reativo. Áreas de cerrado nativo, adjacentes aos experimentos, foram utilizadas como referência das condições originais dos solos. Solos sob PD apresentaram maiores teores de MO, P, Ca e Mg que aqueles sob PC, resultando, também, em maiores valor S e valor V nas áreas sob PD. Foram observados maiores valores de densidade nos solos cultivados com PC. Áreas sob vegetação natural apresentaram os maiores e menores resultados, para biomassa microbiana e número de bactérias cultiváveis, respectivamente. Entre as áreas cultivadas, em geral, solos sob PD apresentaram maior biomassa e atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase que aqueles sob PC. A análise de componentes principais agrupou e diferenciou os solos de acordo com o manejo utilizado e a atividade enzimática, principalmente da arilsulfatase, demonstrou ser um indicador sensível às práticas agrícolas.

**Termos de indexação:** Manejo do solo, química do solo, física do solo, biologia do solo, análise de componentes principais

## ABSTRACT

The population growth and demand for food and raw materials from agricultural origin has pressured the environment and soil management represents a key role for sustainable development. Among the conservation strategies the use of no-tillage (NT) has been emphasized as a practice that aims to protect the soil surface and reduce the impacts generated by plowing. This study aimed to evaluate the effect of NT and conventional tillage (CT) on chemical, physical and biological characteristics in two long-term experiments. Samples were collected at a depth of 0-10 cm in a clayey Typic Haplustox planted with corn and soybean under conventional till (CT) and NT systems and in an Oxisoil planted with corn and soybean under NT and CT fertilized with two phosphate sources, triple superphosphate and reactive phosphate rock. Areas of native vegetation, adjacent to the experiments, were used as reference to the original conditions of the soil. NT soils had higher content of MO, P, Ca and Mg than those under CT, resulting also in higher S-value and V-value in the areas under NT. Higher density were observed in soils under CT. Natural vegetation soils had the highest and lowest results for microbial biomass and numbers of culturable bacteria, respectively. Among the cultivated areas, in general, NT soils had higher biomass and activity of the enzymes  $\beta$ -glucosidase, acid phosphatase and arylsulfatase than those under CT. The principal component analysis grouped and differentiated the soils according to management procedures. Enzymatic activity, especially arylsulfatase proved to be a sensitive indicator of soil alterations promoted by agricultural practices.

**Index terms:** Soil management, soil chemistry, soil physics, soil biology, principal component analysis

## 1. INTRODUÇÃO

As atividades agrícolas podem afetar as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo e do ambiente (Souza et al., 2005), e o manejo inadequado pode levar à degradação e queda na produtividade (Bronick e Lal, 2005). Os diferentes manejos do solo e das culturas afetam o equilíbrio existente entre o solo e os organismos que nele habitam, e o PD tem-se mostrado uma das melhores alternativas conservacionistas para os solos brasileiros (Pereira et al., 2007).

As características do manejo do solo e das culturas no PD provocam diferentes alterações no perfil do solo com relação ao cultivo convencional (Anghinoni, 2007). De maneira geral, os principais efeitos do PD sobre as propriedades químicas são o acúmulo de bases (Ca, Mg e K) na superfície do solo (Sá, 1999; Nunes et al., 2008), acúmulo de matéria orgânica (Sá, 2001; Calegari, 2006) e aumento da CTC (Burle et al., 1997). Já sobre os atributos físicos, Spera et al. (2004) afirmam que, na medida em que se intensifica o uso agrícola, as propriedades físicas do solo sofrem alterações geralmente desfavoráveis ao crescimento vegetal e essas alterações são ainda mais nítidas quando os sistemas de uso do solo são comparados com a vegetação natural de cerrado.

Dentre as variáveis utilizadas para se caracterizar o componente biológico dos solos, destacam-se as medidas de biomassa e atividade microbiana (Silva, 2008), além disso, a quantificação de microrganismos do solo também oferece informações importantes, já que, de acordo com Pereira et al. (2000), as avaliações qualitativas e quantitativas das populações na comunidade microbiana são relevantes, tanto na caracterização das relações entre os diferentes grupos e espécies de microrganismos como na identificação de fatores ambientais que exercem influência no equilíbrio microbiológico dos solos.

Vários estudos realizados no Brasil constataram que, em geral, a biomassa microbiana é maior em solos sob PD do que sob PC (Carvalho, 1997; Balota et al., 2004; Mendes et al., 2003; Franchini et al., 2007).

A atividade dos microrganismos afeta diretamente os atributos químicos e físicos do solo, contribuindo, ativamente, para sustentabilidade dos sistemas agrícolas (Pereira et al., 2007). Silva (2008) cita a atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida como importantes atributos na avaliação

da atividade dos microrganismos, relatando que estas enzimas foram eficientes em identificar as alterações decorridas do manejo do solo.

Além de se avaliar os atributos químicos, físicos e biológicos do solo, é importante estudar as diferenças e estabelecer as relações entre os tratamentos e características avaliadas, sendo a análise multivariada uma ferramenta interessante para se trabalhar com as informações obtidas (Cruz-Castilho et al., 1994), tornando-se uma técnica cada vez mais popular para analisar conjuntos complexos de dados (Tabachnick e Fidell, 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do plantio direto e o preparo convencional sobre propriedades químicas, físicas e biológicas em dois experimentos de longa duração sob um Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) e um Latossolo Vermelho (LV) de Cerrado.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Descrição das áreas de estudo**

Foram realizadas avaliações em dois experimentos conduzidos na área experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina - DF, com delineamentos estatísticos pré-estabelecidos e com histórico bem conhecido. Esses estudos visam comparar PD e PC e se diferenciam no tempo em que estão sob cultivo em rotação milho/soja. A altitude do local é de aproximadamente 1170 metros, o clima da região é do tipo tropical estacional (Aw) conforme classificação de Köppen, com precipitação média de 1500 mm concentrada no período que ocorre de outubro a março, sendo o período seco, definido em termos de déficit hídrico, com duração de 5 a 6 meses.

No experimento 1 (Figura 1), sob Latossolo Vermelho Amarelo argiloso, os sistemas de plantio PC e PD tiveram início em 1992 (experimento em faixas). Antes de 1992, a área foi utilizada para produção de culturas anuais (principalmente soja) durante 15 anos, sob sistema de manejo de solo convencional. Esse experimento consiste em 4 faixas, sendo duas sob PD (320 m de comprimento por 50 m de largura) e duas sob PC (320 m de comprimento por 25 m de largura). Para as amostragens feitas nesse estudo, as áreas sob PD e PC foram subdivididas em 3 parcelas de 11m x 50m e 11m x 25m respectivamente. Para cada sistema de

manejo, uma das faixas consta da rotação milho/soja e a outra, soja/milho. As faixas de PD receberam como cultura de cobertura o milheto, que foi plantado na safrinha (final da estação chuvosa) até o ano de 2004, em sucessão a cultura principal. As faixas sob PC foram mantidas em pousio até o preparo do solo para a safra seguinte, sendo realizada uma aração e duas gradagens.

O segundo experimento (Figura 2), sob Latossolo Vermelho muito argiloso, teve os sistemas de PC e PD iniciados em 1994, sendo composto por parcelas de 32m<sup>2</sup> de área cultivada (8m x 4m), distribuídas em um delineamento experimental em blocos ao acaso com parcelas subdivididas com três repetições. A partir da safra de 2003/2004, os dois tipos de manejo têm recebido o milheto como planta de cobertura durante o inverno, sendo mantida a rotação milho/soja no verão. Foi feita irrigação de manutenção no inverno, e durante a estação chuvosa foi feita irrigação complementar, no caso de veranicos prolongados. Além dos sistemas de plantio, também foram avaliados os efeitos da aplicação de duas fontes de fósforo, superfosfato triplo (ST) e fosfato natural reativo de Gafsa (FNR), aplicadas no sulco na dose de 80 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>.

Nos dois experimentos, calcário, gesso, potássio, enxofre, nitrogênio e micronutrientes, foram aplicados segundo recomendações de Sousa e Lobato (2004).

Áreas adjacentes sob vegetação nativa de Cerrado foram utilizadas como referência para fornecer informações sobre as condições originais do solo em cada área.



Figura 1: Imagem do experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, obtida com auxílio do software Google Earth. As áreas delimitadas correspondem às parcelas sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) e suas respectivas parcelas: I, II e III.



Figura 2: Imagem do experimento sob Latossolo Vermelho, obtida com auxílio do software Google Earth. CN = áreas de onde foram coletadas as amostras referentes ao Cerrado nativo; FNR PD = fosfato natural reativo PD; ST PD = superfosfato triplo PD; FNR PC = fosfato natural reativo PC; ST PC = superfosfato triplo PC.

## 2.2. Coleta das amostras

As coletas das amostras de solo foram realizadas no período chuvoso, durante a fase de floração das culturas (soja e/ou milho), na profundidade de 0-10 cm, com a utilização de um trado holandês. Foram, também, retiradas amostras indeformadas pelo método do anel volumétrico (Kopecky), com auxílio do amostrador tipo Uhland, para a determinação da densidade do solo e porosidade. A escolha da profundidade 0 a 10 cm deve-se ao fato de que em estudos anteriores (Mendes, 2002) foi verificado que as diferenças, nos atributos biológicos, entre sistemas de manejo e entre fitofisionomias nativas são mais acentuadas nas camadas superficiais do solo, praticamente desaparecendo abaixo dos 10 cm.

No experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, foram coletadas 15 sub-amostras, formadas por 5 sub-sub-amostras retiradas de 3 pontos dentro de cada parcela. O esquema utilizado foi proposto por Nicolodi et al. (2002) onde a amostragem é realizada perpendicularmente à linha de plantio sendo realizados cinco furos (um no centro da linha de plantio, mais dois de cada lado). As coletas foram feitas durante o mês de fevereiro nos anos 2008 e 2009.

No experimento sob Latossolo Vermelho, as coletas foram feitas em fevereiro de 2009 (milho) e 2010 (soja). Em cada parcela foram coletadas amostras compostas por 6 sub-amostras, formadas, cada uma, por 5 sub-sub-amostras (na cultura da soja) ou 7 sub-sub-amostras (na cultura do milho), sendo um dos pontos na linha de plantio e os demais nas entrelinhas, também seguindo o esquema proposto por Nicolodi et al. (2002) adaptado.

As amostragens na área sob cerrado nativo foram feitas por meio de transectos, dividindo-se a área em três talhões, sendo que em cada talhão foram retiradas amostras compostas de 20 sub-amostras, conduzidas aleatoriamente.

As amostras compostas de cada área foram homogeneizadas e colocadas em sacos plásticos para serem transportadas ao laboratório, onde foram passadas por uma peneira de malha 4 mm e retirada de resíduos de plantas e raízes. Após esta operação parte das amostras seguiu para os laboratórios de química e física do solo da Embrapa Cerrados, enquanto o restante foi armazenado a uma temperatura de 7<sup>o</sup> C a 10<sup>o</sup> C, até o momento da realização dos ensaios no laboratório de microbiologia do solo. Para o isolamento e contagem de bactérias as amostras permaneceram refrigeradas por, no máximo, 24 horas e para as análises da biomassa e atividade enzimática, o período de armazenagem foi de até 72 horas.

### **2.3. Análises químicas**

As amostras foram passadas por peneira de 2mm, secas ao ar e submetidas a análises de pH em água, acidez potencial (H + Al), matéria orgânica e teores de Ca, Mg, Al, P e K. A acidez potencial foi extraída com solução de acetato de cálcio 1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0 e determinada por titulação com hidróxido de sódio 1 mol L<sup>-1</sup>. Os teores de matéria orgânica foram determinados utilizando-se o método de Walkley e Black modificado (Jackson, 1982). Ca, Mg e Al foram extraídos com KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e

determinados por absorção atômica (Ca e Mg) e titulação com NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup> (Al); P e K foram extraídos com solução Mehlich 1 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0125 mol L<sup>-1</sup> + HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>) e determinados através de espectrofotometria de ionização de chama (K) e espectrofotometria de absorção atômica (P) conforme descrito em EMBRAPA, (1997). No experimento contendo diferentes fontes de fósforo, utilizou-se, também, o método Bray 1 (Bray e Kurtz, 1945), onde a quantidade de P é obtida a partir de uma solução extratora de HCl 0,025 mol L<sup>-1</sup> + NH<sub>4</sub>F 0,03 mol L<sup>-1</sup>.

## **2.4. Análises físicas**

Utilizando-se o método da centrífuga (Freitas Jr. e Silva, 1984), obteve-se a curva característica de retenção de água, a partir da qual foi possível calcular a densidade, a porosidade total e a microporosidade. A porosidade total foi determinada a partir dos valores obtidos da curva quando o solo estava saturado (0 kPa), e a microporosidade a 6 KPa. Estes valores foram transformados para a base volumétrica, multiplicando-se o valor encontrado na curva pela densidade do solo e dividindo-se este valor por 100, o resultado foi expresso em m<sup>3</sup> m<sup>-3</sup>. A macroporosidade foi obtida pela diferença entre a porosidade total e a microporosidade. Por serem atributos mais resistentes às modificações em curtos períodos de tempo, as análises físicas foram feitas em apenas um dos anos em cada área, sendo que na área sob Latossolo Vermelho Amarelo as amostras foram coletadas em 2008 e na área sob Latossolo Vermelho em 2009.

## **2.5. Análises biológicas**

### **2.5.1. Estimativa da biomassa microbiana do solo**

Para a estimativa da biomassa microbiana do solo foi utilizado o método clorofórmio-fumigação-extração (CFE), proposto por Vance et al. (1987). Para cada amostra foram realizadas três repetições analíticas. Após a coleta no campo, o teor de umidade das amostras contendo 20 g de solo foi elevado a 70% da capacidade

de campo, quando necessário, e estas foram pré-incubadas, no escuro e à temperatura ambiente, por um período de sete dias. Em seguida, metade das amostras foi fumigada por 48 h em um dessecador, contendo uma placa de Petri com 25 ml de clorofórmio livre de álcool. Durante este período, as amostras não-fumigadas foram mantidas à temperatura ambiente. A biomassa microbiana foi extraída pela adição de 50 ml de uma solução de sulfato de potássio ( $K_2SO_4$  - 0,5 mol  $L^{-1}$ ) às amostras de solo, que foram em seguida, submetidas à agitação horizontal (150 rpm) por 40 min. Depois disso, foram filtradas em papel filtro Whatman n.º2, separando-se, em seguida, uma alíquota de 8 ml aos quais foram adicionados 2 ml de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$  0,4 mol  $L^{-1}$ ) e 15 ml de uma mistura de  $H_2SO_4$  (99%) e  $H_3PO_4$  (85%) na proporção de 2:1 em Erlenmeyers de 250 ml. As amostras foram acopladas a condensadores, fervidas sob refluxo por 30 minutos, resfriadas e diluídas com 20 ml de água destilada adicionada pelo condensador. O dicromato residual foi determinado pela titulação com uma solução de sulfato ferroso amoniacal [ $(NH_4)_2Fe(SO_4).6H_2O$ ] em ácido sulfúrico concentrado, na presença de um indicador composto por fenantrolina (0,075 mol  $L^{-1}$ ) e sulfato ferroso (0,041 mol  $L^{-1}$ ). A quantidade de biomassa microbiana foi determinada pela diferença entre o carbono orgânico extraído das amostras de solo fumigadas e não fumigadas, usando um fator de correção (Kec) igual a 0,35, e expressa em  $mg\ C\ kg^{-1}$  solo (Silva et al., 2009).

### **2.5.2. Isolamento e contagem de bactérias**

Das amostras coletadas no campo, 5 g de solo foram colocadas em suspensão com 45 mL de uma solução salina (NaCl 0,85%) estéril. Após 45 min sob agitação a 200 rpm foram feitas diluições seriadas na base 10, até  $10^{-5}$ , para plaqueamento nos meios TSA 1/10 (Trypticase Soy Agar, 1/10) e King's B. Estes meios foram utilizados por serem não seletivos, visando propiciar condições de crescimento para uma maior diversidade de bactérias. A contagem e isolamento foram feitos após incubação a 29°C por 48 h – 72 h de acordo com Gomes et al. (2001). Para o isolamento foram selecionadas as colônias com morfologia predominante presentes nas diluições mais altas.

### **2.5.3. Atividade enzimática do solo**

Foram determinadas as atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, utilizando-se os métodos descritos por Tabatabai (1994). Esta metodologia tem por base a incubação das amostras de solo com uma solução tamponada de substratos específicos para cada enzima, promovendo a liberação do *p*-nitrofenol, que é determinado colorimetricamente. Para cada amostra foram realizadas duas repetições analíticas mais um controle (branco). Para a determinação da quantidade de *p*-nitrofenol liberada por cada amostra foi utilizada, como base, uma curva padrão preparada com concentrações conhecidas de *p*-nitrofenol (0, 10, 20, 30, 40 e 50  $\mu\text{g}$  de *p*-nitrofenol  $\text{mL}^{-1}$ ). A atividade enzimática do solo é expressa em microgramas de *p*-nitrofenol liberado por hora por grama de solo seco ( $\mu\text{g}$  *p*-nitrofenol  $\text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$  solo).

#### **2.5.3.1. $\beta$ -glicosidase**

O substrato utilizado para análise da atividade desta enzima foi o *p*-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosídeo (PNG 0,05  $\text{mol L}^{-1}$ ). Amostras de solo de 1 g foram colocadas em Erlenmeyers de 50 mL, em seguida, foram adicionados 4 mL de solução MUB pH 6,0 a todas as amostras e 1,0 mL de PNG 0,05  $\text{mol L}^{-1}$ , exceto aos controles. Os Erlenmeyers foram fechados com rolhas de borracha e incubados, por uma hora a 37°C. Após esse período foram adicionados 1 mL de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$  0,5  $\text{mol L}^{-1}$ ) e 4 mL de solução THAM (0,1  $\text{mol L}^{-1}$ ) pH 12,0 a todos os frascos e 1 mL de PNG somente aos controles. Em seguida os frascos foram agitados manualmente e seu conteúdo foi filtrado com papel filtro Whatman n.º2. A intensidade da coloração amarela resultante do filtrado foi determinada com a utilização de um espectrofotômetro e leitura de absorbância no comprimento de onda de 420 nm.

#### **2.5.3.2. Fosfatase ácida**

O substrato utilizado na reação desta enzima foi o *p*-nitrofenil fosfato (PNF 0,05  $\text{mol L}^{-1}$ ). Para a determinação da atividade da enzima fosfatase ácida, o

processo é semelhante ao da  $\beta$ -glicosidase. Foram adicionados 4 mL de uma solução MUB pH 6,5 a amostras de 1 g de solo e 1 mL de PNF  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ , exceto para os controles. Os Erlenmeyers foram fechados e após 1 hora de incubação a  $37^\circ\text{C}$  foram adicionados 1 mL de  $\text{CaCl}_2$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e 4 mL de solução NaOH  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  a todos os frascos e 1 mL de PNF, somente aos controles. Em seguida os frascos foram agitados manualmente e, após a filtragem, a intensidade da coloração amarela foi determinada com a utilização de um espectrofotômetro e leitura de absorbância no comprimento de onda de 410 nm.

### **2.5.3.3. Arilsulfatase**

O substrato utilizado na reação desta enzima foi o p-nitrofenil sulfato (PNS  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ). Para a determinação da atividade da enzima arilsulfatase foram adicionados 4mL de tampão acetato ( $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 5,8 a amostras de 1 g de solo e 1 mL de PNS  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ , exceto para os controles. Após 1 h de incubação a  $37^\circ\text{C}$  foram adicionados 1 mL de  $\text{CaCl}_2$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e 4 mL de solução NaOH  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  a todos os frascos e 1 mL de PNS, somente aos controles. Como na análise da atividade da enzima fosfatase, após a filtragem, a intensidade da coloração amarela foi determinada com a utilização de um espectrofotômetro e leitura de absorbância no comprimento de onda de 410 nm.

## **2.6. Tratamento dos dados e análises estatísticas**

Para as avaliações estatísticas dos resultados das análises químicas, físicas e biológicas, foi utilizado o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + B_j + S_i + \text{Erro}_{ij} + F_k + (\text{SD})_{ik} + \text{Erro}_{ijk},$$

onde:  $\mu$  = média geral dos dados; B = bloco/repetição ( $j = 1,2,3$ ); S = Sistema de manejo ( $i = 1,2$ ); F = Fonte de fósforo/Cultura ( $k = 1,2$ ); Erro = erro experimental.

A análise de variância foi feita considerando o modelo misto de máxima verossimilhança restrita via PROC MIXED do SAS 9.1 e quando esta apontou significância o teste de hipótese de Student (t) ( $p < 0,05$ ) foi utilizado para distinção das médias. Como o delineamento experimental não inclui as áreas de referência

(cerrado nativo), estas não foram comparadas com as parcelas experimentais por meio de contrastes. A ausência de sobreposição entre os valores de desvio padrão da referência e os resultados dos tratamentos foi utilizado como uma evidência da diferenças entre estas áreas.

Com o auxílio do programa PC-ORD 5.0 (MjM Software, Oregon-USA) os dados de todos atributos químicos, físicos e biológicos avaliados foram submetidos à análise multivariada do tipo análise dos componentes principais (PCA) para se avaliar a distribuição das áreas estudadas. Utilizou-se uma matriz de correlação onde todas as variáveis incluídas na análise possuem pesos iguais, independentemente das unidades de medidas empregadas ou da ordem de grandeza de seus valores.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Atributos químicos**

As diferenças entre as propriedades químicas dos solos da área sob cerrado nativo e as áreas cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo já eram esperadas, sabendo-se que as áreas cultivadas foram corrigidas e adubadas para adequá-las ao sistema de produção de grãos. Os solos nativos do Cerrado, em geral, apresentam baixo valor de pH, valores elevados de acidez potencial (H+Al) e concentração de alumínio e deficiência generalizada de nutrientes, principalmente de P, Ca e Mg (Sousa et al., 2007), resultados geralmente observados neste estudo nos dois anos avaliados (Tabelas 1 e 2). Além disso, o cerrado nativo apresentou os menores níveis de K e os maiores teores de matéria orgânica. Matsuoka et al. (2003) e Mendes et al. (2003) também encontraram maiores valores de MO e menores níveis de K em solos sob cerrado nativo que aqueles encontrados em solos cultivados.

Por ser o resultado da soma das bases (Ca, Mg e K), o valor S do solo sob cerrado nativo foi menor do que aqueles encontrados nas áreas cultivadas, já o valor T, que leva em consideração, além das bases citadas, a soma de H+Al, caracteristicamente maiores nos solos de Cerrado, levou a área nativa a apresentar

resultado mais próximo ao das áreas cultivadas, sendo, inclusive, maior na área natural que nas áreas semeadas com milho e soja sob PC (Tabelas 1 e 2). O valor V expressa a razão entre o valor S e o valor T, sendo apresentado em porcentagem. Como as áreas sob cerrado nativo apresentaram valores muito pequenos de valor S, tais áreas também apresentaram os menores valores do valor V.

Entre as áreas cultivadas, de maneira geral, foram observadas apenas diferenças pontuais de pH entre os tratamentos, sendo que, em 2008, a área cultivada com soja sob PD foi a que apresentou maior valor para esse atributo, não sendo observada diferença significativa entre as demais áreas. Já em 2009, o menor pH foi encontrado na área cultivada com milho sob PC, sendo os demais tratamentos estatisticamente semelhantes. Os teores de Al apresentaram algumas variações de acordo com os tratamentos utilizados. Em 2008, a área cultivada com soja sob PD apresentou maior concentração de Al que os demais tratamentos, que não foram estatisticamente diferentes (Tabelas 1 e 3). Por outro lado, em 2009, observou-se um efeito causado pelo sistema, sendo que os solos manejados com PC apresentaram maiores concentrações de Al que aqueles sob PD (Tabelas 2 e 4). Pereira et al. (2007), em um Latossolo Vermelho de Londrina, no Paraná, na profundidade de 0 – 10 cm encontraram valores de pH e Al similares entre áreas cultivadas sob PD e PC.

Em 2008, os níveis de H+Al foram maiores nos solos cultivados com milho, não havendo diferenças entre os tipos de manejo, independente da cultura (Tabelas 1 e 3). No ano seguinte, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabelas 2 e 4).. Peixoto et al. (2010), também em solos de Cerrado, não encontraram diferenças significativas, em relação ao H+Al, entre as áreas cultivadas sob PC e PD.

Nos dois anos avaliados, os solos manejados com PD apresentaram maiores valores de matéria orgânica (MO) que aqueles sob PC (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Em 2008, observou-se que as áreas cultivadas com milho sob PD tiveram teor de MO superior aqueles cultivados com soja, sob o mesmo manejo, não sendo observada diferença significativa entre os solos cultivados sob PC, já em 2009 não foram observadas diferenças entre os cultivos. Mendes et al. (2003), Costa et al. (2006) e Silva (2008), todos em Latossolos do Cerrado, também encontraram maiores teores de MO em áreas sob PD que aquelas sob PC. Tal resultado deve-se à manutenção de restos culturais sobre a superfície do terreno no PD, já que, sob PC, o

revolvimento contínuo do solo favorece a decomposição do material orgânico e a distribuição da MO na camada de 0 – 20 cm, além do pequeno aporte de resíduos vegetais durante a condução da cultura, conforme observado por Seguy et al. (1984). Bayer (1996) verificou uma diminuição de 14% na taxa de decomposição da matéria orgânica em solo sob PD em comparação ao PC.

Apesar de sua pequena proporção em relação à massa total de solos minerais tropicais, a MO do solo desempenha grande influência sobre várias propriedades edáficas. Dessa forma, muitas das variações das propriedades de um determinado solo são influenciadas, não somente pelo efeito direto da quantidade e qualidade da MO, mas também pelo produto das interações entre os diversos componentes do sistema. Há muito tempo se reconhece a importância da MO para o valor T (CTC) dos solos, podendo contribuir com cerca de 20 – 90% nas camadas superficiais de solos minerais (Silva e Mendonça, 2007). Tal fato pode ser o motivo para as diferenças encontradas neste trabalho entre os solos cultivados com PD e PC, já que as áreas sob PD apresentaram maiores teores de Ca e Mg, resultando em maiores valores de S (soma de bases) e V (saturação por bases), que os encontrados nas áreas de PC. Resultados semelhantes foram observados por Pereira et al. (2007).

Nos dois anos avaliados, as áreas sob PD apresentaram maior concentração de P que as áreas sob PC (Tabelas 1 e 2). Resultados semelhantes foram obtidos por Pereira et al. (2007). De acordo com Falleiro et al. (2003), o P é um elemento pouco móvel no solo, permanecendo no local onde foi depositado. A ausência de revolvimento e a manutenção dos resíduos culturais na superfície do solo contribuem para o aumento dos teores do elemento no PD, principalmente na superfície. A ausência do revolvimento diminui a superfície de contato P-argilas, o que reduz a adsorção do P pelos óxidos de Fe e Al do solo e, conseqüentemente, a sua imobilização (Addiscott e Thomas 2000).

Observa-se que os solos cultivados com soja, em 2008, apresentaram teores de K superiores aqueles cultivados com milho. Já em 2009, apenas a área cultivada com soja sob PD apresentou valor superior aos demais tratamentos, que não foram estatisticamente diferentes (Tabelas 1, 2, 3 e 4), entretanto tais diferenças são desprezíveis em termos práticos. Klepker e Anghinoni (1995) apud Falleiro et al. (2003), não obtiveram efeitos dos sistemas de preparo do solo sobre os teores do elemento.

Tabela 1: Propriedades químicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho Amarelo sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2008.

	<b>pH</b>	<b>Al</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>P(Melich)</b> mg dm <sup>-3</sup>	<b>H+Al</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>MO</b> %	<b>Ca</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Mg</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>K</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Valor S</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Valor T</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Valor V</b> %
<b>Milho PD</b>	5,70 b	0,04 b	16,27	4,76 a	3,01 a	2,49 b	0,79 b	0,15	3,44 b	8,19	41,94 bc
<b>Milho PC</b>	5,75 b	0,05 b	14,55	4,40 a	2,47 c	2,02 c	0,48 c	0,16	2,66 c	7,06	37,66 c
<b>Soja PD</b>	6,27 a	0,07 a	18,16	3,10 b	2,86 b	3,29 a	1,40 a	0,20	4,88 a	7,98	61,23 a
<b>Soja PC</b>	5,95 b	0,04 b	9,67	3,60 b	2,55 c	1,92 c	0,58 bc	0,20	2,76 c	6,36	43,38 b
<b>Média de sistemas</b>											
<b>PD</b>	5,98	0,05	17,21 a	3,93	2,93	2,89	1,09	0,17	4,16	8,08 a	51,58
<b>PC</b>	5,85	0,04	12,11 b	4,00	2,51	1,97	0,53	0,18	2,71	7,52 b	40,52
<b>Média de culturas</b>											
<b>Milho</b>	5,72	0,04	15,41	4,08	2,74	2,25	0,63	0,15 b	3,05	7,62	39,8
<b>Soja</b>	6,11	0,04	13,91	3,35	2,70	2,10	0,99	0,20 a	3,77	7,17	52,30
<b>Cerrado</b>	4,99 ± 0,07	1,00 ± 0,04	1,14 ± 0,08	6,99 ± 0,09	3,27 ± 0,19	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,26 ± 0,03	7,25 ± 0,09	3,55 ± 0,45

Valores seguidos pelas mesmas letras, na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ). Valor S = Ca + Mg + K; valor T = Ca + Mg + H + Al; valor V = (valor S / valor T) x 100. Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 2: Propriedades químicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho Amarelo sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2009.

	<b>pH</b>	<b>Al</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>P(Melich)</b> mg dm <sup>-3</sup>	<b>H+Al</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>MO</b> %	<b>Ca</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Mg</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>K</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Valor S</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Valor T</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Valor V</b> %
<b>Soja PD</b>	5,96 a	0,03	10,71	4,11	3,23	2,91 a	0,94 b	0,20 a	4,05 b	8,16	49,61 b
<b>Soja PC</b>	5,85 a	0,04	8,16	3,57	2,61	1,98 b	0,42 c	0,16 b	2,57 c	6,44	40,05 c
<b>Milho PD</b>	6,10 a	0,02	9,98	3,30	3,16	3,03 a	1,30 a	0,17 b	4,50 a	7,80	57,75 a
<b>Milho PC</b>	5,73 b	0,05	5,93	3,42	2,59	1,69 c	0,47 c	0,17 b	2,33 c	5,74	37,10 c
<b>Média de sistemas</b>											
<b>PD</b>	6,03	0,02 b	10,34 a	3,70	3,19 a	2,97	1,12	0,18	4,27	7,98	53,68
<b>PC</b>	5,79	0,04 a	7,04 b	3,49	2,60 b	1,83	0,44	0,16	2,45	6,09	38,57
<b>Média de Culturas</b>											
<b>Milho</b>	5,91	0,03	7,95	3,36	2,87	2,36	0,88	0,17	3,41	6,77	47,42
<b>Soja</b>	5,90	0,03	9,43	3,84	2,92	2,44	0,68	0,18	3,31	7,30	44,83
<b>Cerrado</b>	4,89 ± 0,23	0,89 ± 0,03	0,38 ± 0,16	4,45 ± 1,90	3,37 ± 0,29	0,12 ± 0,01	0,09 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,28 ± 0,02	4,74 ± 1,89	5,12 ± 1,65

Valores seguidos pelas mesmas letras, na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ). Valor S = Ca + Mg + K; valor T = Ca + Mg + H + Al; valor V = (valor S / valor T) x 100. Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 3: Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos químicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2008.

Fonte de Variação	GL	pH	Al	P(Melich)	H+Al	MO	Ca	Mg	K	ValorS	ValorT	ValorV
Sistemas	1	2,72 ns	2,94 ns	10,15 **	0,08 ns	102,27**	57,21**	70,38**	1,42 ns	58,10 **	35,07 **	34,84 **
Cultura	1	47,34**	4,81 ns	2,34 ns	111,15 **	0,88 ns	8,08 *	27,64**	6,30 *	16,65 **	3,80 ns	84,48 **
Sist X Cultura	1	11,01 *	7,18 *	0,45 ns	13,48 *	10,45 *	13,57**	13,90**	1,06 ns	12,35 **	1,07 ns	24,82 **

ns= não significativo \*, \*\* significativo a 5 e 1%, respectivamente.

Tabela 4: Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos químicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2009.

Fonte de Variação	GL	pH	Al	P(Melich)	H+Al	MO	Ca	Mg	K	ValorS	ValorT	ValorV
Sistemas	1	5,58 ns	18,00**	16,92 **	0,38 ns	13,38 *	755,80 **	395,29 **	28,80**	631,05 **	14,69 ns	35,63 *
Cultura	1	0,67 ns	0,00 ns	3,42 ns	2,17 ns	0,11 ns	4,60 ns	36,87 **	7,20 *	2,22 ns	0,72 ns	4,60 ns
Sist X Cultura	1	10,15 *	6,00 ns	0,88 ns	6,16 ns	0,04 ns	25,61 **	20,30 **	20,00**	22,47 **	0,51 ns	20,93 *

ns= não significativo \*, \*\* significativo a 5 e 1%, respectivamente.

Como já esperado, assim como no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, as diferenças entre as propriedades químicas dos solos foram maiores entre as áreas sob cerrado nativo e as áreas cultivadas no Latossolo Vermelho (Tabelas 5 e 6). Novamente o solo sob vegetação nativa apresentou menores resultados de pH, Ca, Mg, P, valor S, valor T e valor V e maiores teores de Al e H+Al que as áreas cultivadas, resultados decorrentes do manejo do solo, como a aplicação de calcário e fertilizantes. Resultados semelhantes foram descritos por Carneiro et al. (2009), em um Latossolo Vermelho distroférico localizado no município de Costa Rica (MS).

Em 2009, o solo sob vegetação nativa apresentou teores de matéria orgânica inferiores aos encontrados nas áreas cultivadas com PD, e similares aos encontrados nos solos manejados com PC. Já em 2010, a MO do solo sob cerrado nativo foi superior à encontrada nos solos sob PC e similar à observada nas áreas sob PD. A utilização de plantas de cobertura neste experimento pode ser um dos motivos para estes resultados, já que, de acordo com Correia e Durigan (2008), o cultivo de plantas de cobertura possibilita um aumento do teor da matéria orgânica.

Entre as áreas cultivadas, nota-se que em 2009 (Tabelas 5 e 7) as áreas adubadas com ST apresentaram valores de pH inferiores aos encontrados nos solos que receberam FNR, independente do manejo utilizado. Em 2010 (Tabelas 6 e 8) este resultado se repetiu apenas nas áreas sob PD, sendo que nas áreas manejadas com PC não foram observadas diferenças significativas entre o pH dos solos adubados com ST e FNR. Moreira et al. (2002), avaliando a eficiência agrônômica de fontes e doses de P, também observaram uma diminuição significativa do pH em solos adubados com ST, devido, provavelmente, à acidificação do solo causada pela hidrólise do ST, dando origem à formação do ácido fosfórico.

Não foram observadas diferenças significativas na concentração de Al entre as áreas cultivadas, seja sob PD ou PC, adubado com ST ou FNR. Nos dois anos avaliados, observa-se que as áreas adubadas com ST apresentaram acidez potencial (H+Al) superior às encontradas nas áreas que receberam FNR, porém, apenas em 2009 esta diferença foi significativa. Como os solos adubados com ST apresentaram, também, um menor valor de pH, este pode ser um dos motivos para que a acidez potencial tenha sido mais elevada nestas áreas, já que, de acordo com Nicolodi et al (2008), com a diminuição do pH, ocorre um aumento proporcional, mas

não linear, de H+Al. Entre as práticas de manejo utilizadas foram observadas apenas pequenas variações. Hungria et al. (2009) também encontraram poucas diferenças entre a acidez potencial de solos sob PD e PC, sendo que aqueles sob PC apresentaram teores de H+Al levemente superiores, mas não significativamente diferentes das encontradas sob PD.

Assim como no experimento anterior, tanto em 2009 quanto em 2010, os teores de MO das áreas sob PD foram superiores aos encontrados nos solos sob PC, além disso, não foram observadas diferenças significativas entre as fontes de fósforo, ST e FNR. Souza e Alves (2003), avaliando as modificações dos atributos de um Latossolo Vermelho distrófico de Cerrado sob diferentes usos e manejos, também encontraram maior MO nos solos conduzidos sob PD que aqueles sob PC. No trabalho de Bayer et al. (2000), os autores observaram que a redução do revolvimento do solo resultou numa expressiva diminuição das taxas de perda de matéria orgânica, e de acordo com Reicosky e Lindstrom (1993), a diminuição do fracionamento e incorporação dos resíduos vegetais, a menor disponibilidade de oxigênio, as menores temperaturas e a maior proteção física da matéria orgânica intra-agregados são fatores importantes que contribuem para as menores taxas de decomposição da MO nos sistemas com menor revolvimento.

Nos dois anos avaliados, os solos sob PD apresentaram maiores teores de Ca que aqueles sob PC, adubados com a mesma fonte de fósforo. Os níveis de Ca dos solos adubados com FNR foram superiores aos encontrados nos solos que receberam ST, isto pode ser explicado pelo fato de o fosfato natural reativo apresentar de 30 a 34% de cálcio, enquanto o ST tem apenas de 12 a 14% (CFSEMG, 1999). Quanto aos teores de Mg, apenas no ano de 2009 foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que os solos manejados com PD apresentaram maiores quantidades de Mg que aqueles sob PC. No que diz respeito às fontes de P, apenas sob PC, em 2009, a diferença entre FNR e ST foi estatisticamente significativa. Falleiro et al. (2003), verificando as alterações provocadas pelos sistemas de preparo sobre algumas propriedades físicas e químicas do solo, encontraram maiores valores de Ca e Mg nos solos sob PD, na camada de 0 – 5 cm, atribuindo este resultado ao não revolvimento do solo e à reciclagem dos nutrientes pelas plantas.

De maneira geral, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos quanto aos níveis de K. Peixoto et al. (2010) não observaram diferenças significativas nos valores de K dos solos sob PD e PC.

Com apenas uma exceção em 2010, os solos manejados com PD apresentaram maior valor S, valor T e valor V que as áreas cultivadas com PC, sob o mesmo tipo de adubo utilizado. Resultados semelhantes foram observados por Silva (2008). Quanto ao tipo de adubo fosfatado, observa-se que, apenas em 2010, as áreas que receberam o FNR apresentaram valor S e valor V estatisticamente superiores aquelas adubadas com ST.

De acordo com Sousa e Lobato (2004), o extrator Mehlich I superestima a disponibilidade de P em solos adubados com FNR, pois solubiliza parte deste fertilizante ainda não dissolvido no solo, sendo o extrator Bray 1 mais adequado para estimar a disponibilidade de P nesses solos. Isto explica os altos valores de P, obtidos via Mehlich I, nas áreas adubadas com FNR (Tabelas 5 e 6), e por isso, serão utilizados os valores encontrados pelo método Bray 1 nessa discussão.

As áreas adubadas com FNR apresentaram, nos dois anos avaliados, valores de P menores que as áreas que receberam ST, entretanto, em 2010, os solos adubados com ST sob PC foram estatisticamente semelhantes aqueles adubados com FNR. Tal fato já era esperado, já que o ST apresenta maior solubilidade que o FNR. Os solos adubados com ST sob PD apresentaram maiores valores de P que aqueles manejados com PC. Nas áreas que receberam FNR, apesar das diferenças não terem sido significativas, também se observa que os solos sob PD apresentaram maiores teores de P que aqueles cultivados com PC. Falleiro et al. (2003) encontraram maiores valores de P nos solos sob PD que naqueles que sofreram revolvimento. De acordo com Sá (2004), o maior teor de P do solo em plantio direto pode ser devido à adição desse nutriente nas camadas superficiais, ao efeito de concentração, às reações de adsorção e à sua reciclagem pela mineralização dos resíduos, além disso, segundo Anghinoni (2007), a mineralização lenta e gradual dos resíduos orgânicos proporciona a liberação e a redistribuição das formas orgânicas de P, mais móveis no solo e menos susceptíveis às reações de adsorção.

Tabela 5: Propriedades químicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho (ano 2009), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

	pH	Al cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	P(Bray) mg dm <sup>-3</sup>	P(Melich) mg dm <sup>-3</sup>	H+Al cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	MO %	Ca cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Mg cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	K cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Valor S cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Valor T cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Valor V %
<b>PC ST</b>	5,43	0,03	8,14 b	8,55 b	5,72	3,08	2,55 c	0,63 b	0,23	3,41 c	9,13	37,32 c
<b>PC FNR</b>	5,67	0,03	3,35 c	17,27 b	5,03	3,17	2,88 b	0,56 c	0,25	3,69 b	8,72	42,27 b
<b>PD ST</b>	5,36	0,06	14,89 a	14,21 b	6,11	3,66	2,89 b	0,79 a	0,22	3,91 b	10,50	39,02 bc
<b>PD FNR</b>	5,78	0,03	3,79 c	40,97 a	4,60	3,49	4,11 a	0,84 a	0,24	5,19 a	9,79	52,98 a
<b>Média de sistemas</b>												
<b>PD</b>	5,57	0,045	9,34	27,93	5,35	3,57 a	3,50	0,81	0,23	4,55	10,14 a	46,00
<b>PC</b>	5,55	0,03	5,74	5,745	5,37	3,12 b	2,71	0,59	0,24	3,55	8,92 b	39,79
<b>Média de fontes</b>												
<b>FNR</b>	5,725 a	0,03	3,57	22,16	4,81 b	3,33	3,49	0,70	0,24	4,44	9,25	47,62
<b>ST</b>	5,365 b	0,045	11,51	11,51	5,91 a	3,37	2,72	0,71	0,22	3,66	9,81	38,17
<b>Cerrado</b>	4,72 ± 0,10	1,22 ± 0,01	1,20 ± 0,15	0,63 ± 0,05	8,19 ± 0,20	3,18 ± 0,17	0,14 ± 0,05	0,14 ± 0,04	0,09 ± 0,02	0,37 ± 0,10	8,56 ± 0,30	4,32 ± 1,10

Valores seguidos pelas mesmas letras, na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ). Valor S = Ca + Mg + K; valor T = Ca + Mg + H + Al; valor V = (valor S / valor T) x 100. Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 6: Propriedades químicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com soja (ano 2010) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

	<b>pH</b>	<b>Al</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>P(Bray)</b> mg dm <sup>-3</sup>	<b>P(Melich)</b> mg dm <sup>-3</sup>	<b>H+Al</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>MO</b> %	<b>Ca</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Mg</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>K</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Valor S</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Valor T</b> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	<b>Valor V</b> %
<b>PC ST</b>	5,59 a	0,02	6,33 b	5,32	7,52	3,10	2,03	0,43	0,34	2,80	10,13	29,89
<b>PC FNR</b>	5,57 a	0,01	2,87 b	11,09	4,73	3,02	2,66	0,40	0,34	3,40	8,14	41,88
<b>PD ST</b>	5,41 b	0,03	15,09 a	11,15	6,55	3,52	2,40	0,55	0,26	3,21	9,76	32,85
<b>PD FNR</b>	5,55 a	0,08	3,63 b	24,59	4,85	3,59	3,54	0,59	0,34	4,47	9,06	43,94
<b>Média de sistemas</b>												
<b>PD</b>	5,48	0,055	9,36	17,87	5,70	3,55 a	2,97 a	0,57	0,30	3,84 a	9,41	38,39
<b>PC</b>	5,58	0,015	4,60	8,205	6,12	3,06 b	2,34 b	0,41	0,34	3,10 b	9,13	35,88
<b>Média de fontes</b>												
<b>FNR</b>	5,56	0,045	3,25	17,84	4,79	3,30	3,10 a	0,49	0,34	3,93 a	8,60	42,91 a
<b>ST</b>	5,50	0,025	10,71	8,23	7,03	3,31	2,21 b	0,49	0,30	3,00 b	9,94	31,37 b
<b>Cerrado</b>	5,31 ± 0,09	1,29 ± 0,08	1,50 ± 0,19	0,58 ± 0,10	7,90 ± 0,37	3,46 ± 0,03	0,15 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,38 ± 0,01	8,28 ± 0,36	4,55 ± 0,25

Valores seguidos pelas mesmas letras, na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ). Valor S = Ca + Mg + K; valor T = Ca + Mg + H + Al; valor V = (valor S / valor T) x 100. Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 7: Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos químicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com milho (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

Fonte de Variação	GL	Ph	Al	P(Bray)	P(Melich)	H+Al	MO	Ca	Mg	K	ValorS	ValorT	ValorV
Sistemas	1	0,09 ns	1,49 ns	21,45**	23,72**	0,01 ns	18,45**	73,90*	58,98*	0,49 ns	86,52 *	24,87**	35,59**
Fonte de P	1	55,31**	1,49 ns	144,24**	25,62**	34,32**	1,20 ns	223,94**	0,67 ns	2,37 ns	128,36 **	2,60 ns	82,66**
Sist X Fonte de P	1	4,54 ns	1,49 ns	22,79**	8,54*	4,85 ns	0,58 ns	72,94**	16,78*	0,02 ns	52,30 **	0,19 ns	18,78**

ns= não significativo \* , \*\* significativo a 5 e 1%, respectivamente.

Tabela 8: Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos químicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com soja (ano 2010) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

Fonte de Variação	GL	pH	Al	P(Bray)	P(Melich)	H+Al	MO	Ca	Mg	K	ValorS	ValorT	ValorV
Sistemas	1	14,03 **	0,49 ns	12,76 *	3,76 ns	0,71 ns	119,53 **	18,12 *	12,20 ns	3,38 ns	13,91 *	3,07 ns	1,39 ns
Fonte de P	1	4,44 ns	4,38 ns	34,49 **	3,11 ns	5,63 ns	0,02 ns	47,98 **	0,09 ns	4,03 ns	28,13 **	0,41 ns	29,48 **
Sist X Fonte de P	1	7,89 *	4,98 ns	9,93 *	2,00 ns	1,34 ns	2,62 ns	4,02 ns	1,57 ns	3,38 ns	3,47 ns	2,38 ns	0,04 ns

ns= não significativo \* , \*\* significativo a 5 e 1%, respectivamente.

### 3.2. Atributos físicos

Apesar das diferenças terem sido pequenas, observa-se que a área cultivada com soja sob PC apresentou a menor porosidade total entre os tratamentos (Tabelas 9 e 10), diferindo estatisticamente dos demais no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo. As demais áreas não apresentaram diferenças significativas entre si e foram similares ao encontrado sob vegetação nativa. Não foram observadas diferenças significativas entre as áreas estudadas em relação à macro e microporosidade. Quanto à densidade do solo, as áreas cultivadas sob PD apresentaram resultado similar ao do cerrado nativo, diferindo estatisticamente das áreas que foram manejadas com PC. Não foram observadas diferenças estatísticas entre as culturas.

Costa et al. (2006), avaliando a qualidade de um Latossolo Vermelho submetido a sistemas de cultivo com PC e PD, encontraram maior porosidade no solo sob cerrado nativo que nas áreas sob PD e PC, que não diferiram estatisticamente entre si, apresentando, porém, maiores valores nas áreas manejadas com PD. Figueiredo et al. (2009), ao avaliar propriedades físico-hídricas do solo sob diferentes sistemas de manejo em comparação com o cerrado nativo, encontraram maior porosidade no solo sob vegetação natural que aqueles sob a área cultivada, porém, esses autores observaram que as áreas manejadas com PC apresentaram maior porosidade que as áreas sob PD, resultados que vão de encontro ao proposto por Carneiro et al. (2009), que concluíram que o uso de máquinas agrícolas e o manejo inadequado acarretam interferências na estrutura do solo, promovendo redução na porosidade.

Falleiro et al. (2003), verificando as alterações provocadas pelos sistemas de preparo sobre algumas propriedades físicas e químicas de um Argissolo da Zona da Mata Mineira, também não encontraram efeitos do manejo sobre a macro e microporosidade. Resultados semelhantes, na mesma área, foram obtidos por Siqueira (1995), Vallejos M. (1998) e Schaefer et al. (2001). O efeito do preparo sobre os valores de porosidade do solo pode ser pouco evidente, sendo mais comuns os efeitos na forma e distribuição dos poros, ao longo do perfil do solo (Schaefer et al., 2001).

Em relação à densidade do solo, Carneiro et al. (2009), avaliando os efeitos de sistemas de manejos e usos do solo nos atributos químicos, físicos e biológicos

de um Neossolo Quartzarênico órtico e um Latossolo Vermelho distrófico de Cerrado, assim como Figueiredo et al. (2009) e Costa et al. (2006), encontraram os menores valores nas áreas naturais quando comparadas às áreas cultivadas. Segundo Figueiredo et al (2009), tal fato demonstra que os cultivos intensivos tendem a um desarranjo maior das partículas do solo, o que, segundo Costa et al. (2006), pode levar a diminuição da infiltração e a redistribuição de água no solo, aumentando a compactação, o que prejudicaria sensivelmente a produção agrícola.

Tabela 9: Propriedades físicas dos solos na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho Amarelo sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) ano de 2008.

	<b>Porosidade Total</b>	<b>Microporosidade</b>	<b>Macroporosidade</b>	<b>Densidade</b>
	m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup>	m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup>	m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup>	Mg m <sup>-3</sup>
<b>Milho PD</b>	0,59 a	0,41	0,17	0,91
<b>Milho PC</b>	0,59 a	0,44	0,15	0,95
<b>Soja PD</b>	0,60 a	0,40	0,20	0,89
<b>Soja PC</b>	0,57 b	0,41	0,17	0,96
<b>Média de sistemas</b>				
<b>PD</b>	0,59	0,41	0,18	0,90 b
<b>PC</b>	0,58	0,42	0,16	0,95 a
<b>Média de culturas</b>				
<b>Milho</b>	0,59	0,42	0,16	0,93
<b>Soja</b>	0,58	0,40	0,18	0,92
<b>Cerrado</b>	0,60 ± 0,01	0,39 ± 0,05	0,21 ± 0,05	0,91 ± 0,02

Valores seguidos pelas mesmas letras, na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ). Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 10: Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos físicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com milho e soja sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) ano de 2008.

Fonte de Variação	G.L	Porosidade	Micro	Macro	Densidade
Sistemas	1	3,18 ns	0,84 ns	4,72 ns	11,88 **
Fonte de P	1	0,00 ns	2,46 ns	3,09 ns	0,12 ns
Sist X Fonte de P	1	12,00 *	0,62 ns	0,01 ns	1,07 ns

ns= não significativo \* , \*\* significativo a 5 e 1%, respectivamente.

No experimento sob Latossolo Vermelho, a porosidade também variou pouco entre os tratamentos (Tabelas 11 e 12). Apesar disso, a análise estatística aponta que os solos adubados com ST apresentaram maior porosidade que aqueles adubados com FNR. O solo sob vegetação nativa apresentou o menor valor de microporosidade e o maior de macroporosidade, não sendo observadas diferenças significativas entre as áreas cultivadas para estas variáveis. No que diz respeito à densidade do solo, a área sob mata nativa apresentou resultado inferior aos demais tratamentos, enquanto os solos sob PC apresentaram resultados levemente superiores àqueles sob PD. Houve diferença estatística entre as fontes de P utilizadas, sendo que as áreas que receberam FNR apresentaram maiores valores de densidade que aquelas adubadas com ST.

Figueiredo et al. (2009) também encontraram maiores e menores valores, para macro e microporosidade, respectivamente, nos solos sob vegetação nativa comparados com aqueles cultivados. De acordo com Borges et al. (1999), a redução da macroporosidade nas áreas cultivadas decorre do aumento da compactação do solo, que é evidenciada pelo aumento de sua densidade. Figueiredo et al. (2009) encontraram macroporosidade mais alta nos solos sob PD que naqueles sob PC e menor microporosidade nas áreas manejadas com plantio direto que nas áreas sob PC, sendo o manejo do solo o responsável pela quebra da estrutura e entupimento dos poros.

Costa et al. (2006) encontraram os menores resultados de densidade nos solos sob cerrado nativo que naqueles cultivados, não encontrando, entretanto, grandes diferenças entre as áreas plantadas, seja sob PC ou PD, resultado que corrobora os resultados observados na Tabela 4. De acordo com Araújo et al.

(2007), alterações na densidade e porosidade apresentam estreita relação com a intensidade de uso do solo, ou seja, quanto maior for a intensidade de uso, maior a compactação. Costa et al. (2003) também citam que a classe de solo, as condições de umidade, nas quais são realizadas as operações de preparo, semeadura, tratamentos fitossanitários e colheita, bem como o tempo de utilização do manejo adotado também influenciam no comportamento da densidade do solo sob diferentes sistemas de uso.

Tabela 11: Propriedades físicas dos solos na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

	<b>Porosidade Total</b>	<b>Microporosidade</b>	<b>Macroporosidade</b>	<b>Densidade</b>
	$m^3 m^{-3}$	$m^3 m^{-3}$	$m^3 m^{-3}$	$Mg m^{-3}$
<b>PC ST</b>	0,60	0,42	0,18	0,88
<b>PC FNR</b>	0,58	0,44	0,14	0,98
<b>PD ST</b>	0,61	0,42	0,19	0,87
<b>PD FNR</b>	0,59	0,41	0,18	0,93
<b>Média de sistemas</b>				
<b>PD</b>	0,60	0,415	0,185	0,90 b
<b>PC</b>	0,59	0,43	0,16	0,93 a
<b>Média de fontes</b>				
<b>FNR</b>	0,585 b	0,425	0,16	0,955 a
<b>ST</b>	0,605 a	0,42	0,185	0,875 b
<b>Cerrado</b>	0,60 $\pm 0,01$	0,33 $\pm 0,04$	0,26 $\pm 0,04$	0,80 $\pm 0,02$

Valores seguidos por mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ). Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 12: Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos físicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com milho (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

Fonte de Variação	G.L	Porosidade	Micro	Macro	Densidade
Sistemas	1	3,27 ns	2,78 ns	7,61 ns	8,02 *
Fonte de P	1	8,07 *	0,44 ns	6,50 ns	45,00 **
Sist X Fonte de P	1	0,60 ns	1,00 ns	3,12 ns	3,76 ns

ns= não significativo \* , \*\* significativo a 5 e 1%, respectivamente.

### 3.3. Atributos biológicos

#### 3.3.1. Carbono da biomassa microbiana do solo

Os solos sob cerrado nativo apresentaram carbono da biomassa microbiana (CBM) superior aos das áreas cultivadas nos dois anos avaliados no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo (Tabelas 13 e 14). Entre as áreas cultivadas, não foram observadas diferenças significativas entre as culturas, milho e soja nos dois anos avaliados. Porém, em relação ao manejo, foram observadas diferenças apenas no ano de 2009 (Tabelas 14 e 16), quando as áreas sob PD apresentaram maior CBM que aquelas sob PC. Vários estudos têm encontrado CBM maior em solos sob PD que aqueles encontrados em solos sob PC. Kaschuk et al. (2010) fizeram uma revisão sobre os efeitos do manejo sobre o carbono da biomassa microbiana dos solos, eles fizeram um levantamento bibliográfico abrangendo áreas do Brasil inteiro e coletando dados com intervalos de 5 em 5 anos em até 25 anos de implementação do PD. Seus cálculos revelaram que, sob PD, o CBM aumentou 58% em relação ao controle, (PC), no período de 10-15 anos, permanecendo estável até 25 anos. Este trabalho ainda cita outros, como Balota et al. (1998), que encontraram acréscimo de 118% no CBM em solo sob PD em relação ao PC, Pereira et al. (2007), 114%, e Franchini et al. (2007), 80%. Nesse trabalho, os solos cultivados com milho sob PD (2009) tiveram um acréscimo de até 75% no CBM quando comparados com os solos cultivados sob PC.

Os diversos sistemas de uso da terra afetam, de forma diferenciada, o CBM, podendo intensificar ou retardar processos de decomposição, mineralização e

humificação no solo. Tais processos regulam a expressão de propriedades importantes, como a formação e estabilização de agregação, formação do sistema poroso, fluxo de nutrientes, manutenção da diversidade, simbioses e antagonismos (Roscoe et al., 2006).

Além de favorecer a preservação das hifas fúngicas e o acúmulo da serrapilheira na superfície do solo (propiciando a ocorrência de menor variação e de níveis mais adequados de temperatura e umidade), a ausência de revolvimento do solo também resulta em maior presença de raízes, as quais aumentam a entrada de substratos carbonados no sistema, via exudatos radiculares, contribuindo, assim, para maiores níveis de biomassa microbiana (Bopaiah e Shetti, 1991).

O fato de o cerrado nativo apresentar maior CBM do que as áreas cultivadas já era esperado, tendo sido observado por diversos outros autores em diferentes trabalhos (Maciel et al. 1996; Mercante et al. 2000; Oliveira 2000; Mendes 2002; Matsuoka et al. 2003; Costa et al. 2006; Ferreira et al. 2007). Em geral, os maiores valores de CBM são encontrados nos sistemas naturais, destacando-se os ambientes onde há um maior fluxo de resíduos (Roscoe et al., 2006). Segundo Bandick e Dick (1999), nas áreas sob vegetação nativa, dentre os fatores responsáveis por condições mais favoráveis à biomassa microbiana, destacam-se a ausência de preparo do solo e maior diversidade florística. De acordo com Matsuoka et al. (2003) a alta diversidade de plantas das áreas nativas e a presença de vegetação durante todo o ano, influenciam a produção (quantidade) e a qualidade da serrapilheira, o que pode influenciar diretamente a biomassa microbiana associada a essas áreas.

### **3.3.2. Estimativa do número total de bactérias do solo (contagem de unidades formadoras de colônias – UFC)**

Na contagem de UFC por plaqueamento, tanto no meio de cultura King's B como no meio TSA 1/10, o solo sob cerrado nativo apresentou menor número estimado de bactérias em relação às áreas sob cultivo nos dois anos avaliados no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo (Tabelas 13 e 14). No ano de 2008, no meio King's B, não foram observadas diferenças significativas entre as culturas de milho e soja, PC e PD, e a estimativa do número total de bactérias ficou entre  $10^6$

e  $10^7$  UFC por grama de solo. No ano seguinte (Tabelas 14 e 16), os solos cultivados com milho apresentaram menor número de UFC que aqueles cultivados com soja, e as áreas sob PD apresentaram resultados superiores aquelas sob PC.

Já no meio TSA 1/10, no ano de 2008 (Tabelas 13 e 15), o número de UFC por grama de solo na área cultivada com soja sob PD foi superior às demais áreas, que não apresentaram diferenças entre si. No ano de 2009, entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre as culturas de milho e soja, PC e PD, e a estimativa do número total de bactérias ficou entre  $10^6$  e  $10^7$  UFC por grama de solo.

Apesar de, normalmente, as áreas nativas apresentarem maiores valores de CBM (Roscoe et al., 2006), foram encontrados valores inferiores na estimativa do número de UFC nas áreas sob vegetação de cerrado, em relação às áreas cultivadas. No entanto, é importante ressaltar que a biomassa é constituída não apenas por bactérias, mas também por fungos, protozoários, algas e componentes da microfauna. Desses componentes, os fungos são os mais representativos com, pelo menos, o dobro de biomassa que as bactérias (Moreira e Siqueira, 2006). Além disso, sabe-se que apenas 1-10% das espécies bacterianas do planeta teriam a capacidade de crescer em meios de cultivo no laboratório (Torsvik et al., 1990). Os meios de cultura utilizados nesse trabalho também podem ser um fator de influência sobre os resultados encontrados. Apesar desses meios não serem específicos sabe-se que qualquer meio de cultura tende a ser seletivo, em maior ou menor grau, para determinados grupos de bactérias (Zak et al., 1994; Rosado, 2000). Diante do exposto acima, não se pode afirmar, com certeza, que o solo sob cerrado nativo realmente apresenta menor população bacteriana que os solos sob cultivo.

Pereira et al. (1999) encontraram, em um estudo conduzido em Planaltina (DF), maiores populações bacterianas em solo sob cultivo de soja quando comparadas ao solo sob vegetação nativa. Esses autores, que também utilizaram o método de contagem em placas para ter acesso ao número de bactérias nas amostras de solo, sugerem o manejo do solo para cultivo, incluindo aração, adição de adubos minerais e a modificação do pH do solo por meio da calagem, como o principal fator que contribuiu para esse resultado. Características como baixo pH e elevados teores de alumínio, por exemplo, podem interferir na quantidade de colônias encontradas, pois, o pH mais adequado para o crescimento da maioria dos microrganismos seria o próximo à neutralidade (Oliveira et al., 2005). Nesse trabalho, o solo sob cerrado apresentou média de pH em torno de 4,95 e

concentração de alumínio (Al)  $0,95 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ , enquanto nas áreas sob cultivo, onde foi realizada a correção da acidez do solo, foram encontrados valores em torno de 6,0 e  $0,05 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  para o pH e concentração de Al, respectivamente. Essa correção torna o solo adequado ao sistema produtivo e, teoricamente, mais propício para o desenvolvimento dos microrganismos. Além da correção da acidez, a disponibilidade de nutrientes também pode influenciar as comunidades microbianas (Kamel et al., 1989). Essa pode ser uma das razões para que o número de UFC em solo sob área cultivada tenha sido superior às áreas nativas.

### **3.3.3. Atividade enzimática**

#### **3.3.3.1. $\beta$ -glicosidase**

A atividade da  $\beta$ -glicosidase nas áreas sob PD foi superior à das áreas sob vegetação nativa e do PC nos dois anos avaliados no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo (Tabelas 13 e 14). Os tratamentos sob PC apresentaram valores intermediários em relação ao PD e ao cerrado nativo, que apresentou os menores resultados de atividade desta enzima.

Mendes et al. (2003), avaliando atributos microbiológicos de um Latossolo sob vegetação nativa e cultivada, Green et al. (2007), observando o impacto de diferentes tipos de manejo sobre atributos biológicos do solo, e Peixoto et al. (2010), analisando o efeito do cultivo do solo e seu manejo sobre a microbiota, também encontraram os menores valores de  $\beta$ -glicosidase em solos sob vegetação nativa. De acordo com Mendes e Reis Junior (2004), a maior atividade dessa enzima em solos sob PD em relação à encontrada sob cerrado nativo pode estar relacionada com o resíduo de matéria orgânica mais lábil presente na liteira da cultura comparado ao encontrado em vegetação natural. A maior complexidade da serrapilheira em vegetação nativa pode implicar em menor atividade da  $\beta$ -glicosidase, pois outras enzimas, como celulasas e ligninases, teriam uma participação maior no processo de decomposição.

No que se diz respeito ao manejo, Mendes et al. (2003) e Silva (2008), utilizando indicadores microbiológicos para avaliação da qualidade dos solos de cerrado sob diferentes agroecossistemas, também encontraram maior atividade da

$\beta$ -glicosidase sob PD em comparação ao PC. A atividade desta enzima em solos pode ser estritamente relacionada às entradas de material celulósico no solo e às condições físico-químicas que regulam a atividade dos microrganismos decompositores. Portanto, o maior nível de atividade da  $\beta$ -glicosidase em áreas sob PD em relação às áreas sob PC poderia ser explicado pela maior concentração de resíduos vegetais na superfície do solo (Bandick e Dick, 1999).

### **3.3.3.2. Fosfatase ácida:**

As áreas sob cerrado nativo apresentaram, nos dois anos avaliados, os maiores valores para a atividade da fosfatase ácida, em seguida, apareceram as áreas cultivadas com PD, sendo as áreas sob PC aquelas que apresentaram a menor atividade desta enzima no Latossolos Vermelho Amarelo (Tabelas 13 e 14).

O fato da área sob cerrado nativo ter apresentado maior atividade da fosfatase ácida que as áreas cultivadas já era esperado, tendo sido relatado por diversos autores (Matsuoka et al., 2003; Mendes et al., 2003; Carneiro et al., 2004; Peixoto et al., 2010). A fosfatase ácida é responsável pela mineralização do P orgânico no solo, sendo assim, a adição de fertilizantes fosfatados, que promovem o aumento dos níveis de P no solo, influenciam sua atividade, uma vez que o ortofosfato é um inibidor competitivo dessa enzima (Tabatabai, 1994). Isso explica os índices elevados de atividade da fosfatase no cerrado nativo, área onde não existe entrada de fósforo via adubos minerais e toda a ciclagem desse elemento deve ser feita através de processos de solubilização de fontes pouco solúveis e, principalmente, através da mineralização do P da matéria orgânica pelas fosfatases (Mendes e Reis Junior, 2004).

Em 2008 (Tabelas 13 e 15), observa-se que as áreas sob PD apresentaram maiores valores de atividade da enzima que aqueles sob PC. Além disso, nota-se que as áreas cultivadas com soja apresentaram resultados superiores àqueles cultivados com milho. No ano seguinte (Tabelas 14 e 16) as áreas sob PD continuaram apresentando os maiores valores de atividade, sendo que o solo cultivado com soja apresentou resultado superior aquele cultivado com milho, sob o mesmo manejo, entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre os solos sob PC, cultivados com soja e milho.

Balota et al. (2004), avaliando os efeitos da rotação de culturas e do plantio direto e do preparo convencional, sobre as enzimas do solo, além de Mendes et al., (2003), Carneiro et al. (2004), Silva (2008), e Peixoto et al. (2010), também encontraram atividade da fosfatase ácida superior nas áreas sob PD do que aquelas sob PC. De acordo com Balota et al. (2004), um argumento que pode explicar a maior atividade das enzimas sob PD é que este tipo de preparo pode oferecer um melhor habitat microbiano, quando comparado com o PC.

### **3.3.3.3. Arilsulfatase:**

Nos dois anos avaliados a atividade da enzima arilsulfatase foi maior nos solos sob PD, seguido das áreas sob vegetação nativa e PC, onde foram encontrados os menores valores no Latossolo Vermelho Amarelo (Tabelas 13, 14, 15 e 16).

Silva (2008) também encontrou maiores valores desta enzima nas áreas sob PD, seguida das áreas sob cerrado nativo e PC. Da mesma maneira, trabalhos de outros autores mostraram atividade da arilsulfatase em solos sob PD superiores aquelas encontradas em solos sob PC (Mendes et al., 2003; Balota et al., 2004; Mijangos et al., 2006).

A arilsulfatase é uma enzima que está envolvida na mineralização dos ésteres de sulfato nos solos (Tabatabai, 1994). A maior atividade da arilsulfatase no PD pode refletir o aumento da biomassa fúngica, pois a arilsulfatase tem forte correlação com ergosterol (Taylor e Dick, apud Balota et al. 2004), que é quase exclusivamente encontrado em fungos (Newell et al., 1987). Além disso, os fungos têm até 42% de seu enxofre como sulfato de éster, que é o substrato para arilsulfatase, enquanto que as bactérias tem cerca de apenas 10% (Saggar et al., 1981; Bandick e Dick, 1999).

De acordo com Mendes et al. (2003) fatores como acessibilidade, qualidade dos substratos orgânicos e alterações nas comunidades microbianas podem estar associados às mudanças nos teores de CBM, fosfatase ácida,  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase. Isto pode justificar a diferença encontrada entre os solos sob manejo agrícola e a área sob mata nativa estudados.

Tabela 13: Propriedades biológicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho-Amarelo sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho e soja sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2008.

	<b>Biomassa Microbiana</b>	<b>Meio King's B</b>	<b>Meio TSA 1/10</b>	<b><math>\beta</math>-glicosidase</b>	<b>Fosfatase Ácida</b>	<b>Arilsulfatase</b>
	mg C kg <sup>-1</sup> solo	log n° UFC g <sup>-1</sup> solo	log n° UFC g <sup>-1</sup> solo	µg <i>p</i> -nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>	µg <i>p</i> -nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>	µg <i>p</i> -nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>
<b>Milho PD</b>	536,54	6,75	6,93 b	127,38	627,77	74,07
<b>Milho PC</b>	455,25	6,55	6,61 b	79,20	437,55	50,17
<b>Soja PD</b>	559,61	6,84	7,86 a	118,90	658,50	70,03
<b>Soja PC</b>	521,61	6,81	6,90 b	92,27	570,65	45,73
<b>Média de sistemas</b>						
<b>PD</b>	548,07	6,795	7,395	123,14 a	643,13 a	72,05 a
<b>PC</b>	488,43	6,680	6,755	85,73 b	504,10 b	47,95 b
<b>Média de culturas</b>						
<b>Milho</b>	495,89	6,650	6,770	103,27	532,66 b	62,12
<b>Soja</b>	540,61	6,825	7,380	105,58	614,57 a	57,88
<b>Cerrado</b>	817,05 ± 135,52	5,49 ± 0,20	5,71 ± 0,24	44,43 ± 15,43	1147,84 ± 35,57	59,98 ± 8,42

Valores seguidos por mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ). Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 14: Propriedades biológicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho-Amarelo sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho e soja sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2009.

	<b>Biomassa Microbiana</b> mg C kg <sup>-1</sup> solo	<b>Meio King's B</b> log n° UFC g <sup>-1</sup> solo	<b>Meio TSA 1/10</b> log n° UFC g <sup>-1</sup> solo	<b>β-glicosidase</b> μg ρ-nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>	<b>Fosfatase Ácida</b> μg ρ-nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>	<b>Arilsulfatase</b> μg ρ-nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>
<b>Soja PD</b>	252,13	6,70	6,97	128,68	580,93 a	86,02
<b>Soja PC</b>	247,99	6,52	6,64	74,68	403,32 c	68,19
<b>Milho PD</b>	403,60	6,55	6,41	136,30	523,07 b	103,74
<b>Milho PC</b>	230,52	6,21	6,45	95,86	429,33 c	69,90
<b>Média de sistemas</b>						
<b>PD</b>	327,86 a	6,625 a	6,690	132,49 a	552,00	94,88 a
<b>PC</b>	239,25 b	6,365 b	6,365	85,27 b	416,32	69,04 b
<b>Média de Culturas</b>						
<b>Milho</b>	317,06	6,380 b	6,310	116,08	476,20	86,82
<b>Soja</b>	250,06	6,610 a	6,745	101,68	491,69	77,10
<b>Cerrado</b>	531,58 ± 23,82	5,22 ± 0,07	5,43 ± 0,24	61,87 ± 7,76	731,07 ± 30,99	78,17 ± 14,09

Valores seguidos por mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ). Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 15 Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos biológicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2008.

Fonte de Variação	G.L	Biomassa microbiana	Meio King's B	Meio TSA 1/10	$\beta$ -glicosidase	Fosfatase Ácida	Arilsulfatase
Sistemas	1	4,29 ns	1,81 ns	28,52 **	12,66 *	25,98 **	32,76 **
Cultura	1	3,61 ns	3,97 ns	25,90 **	0,08 ns	9,02 *	1,14 ns
Sist X Cultura	1	0,85 ns	0,92 ns	7,11 *	1,79 ns	3,52 ns	0,00 ns

ns= não significativo \* , \*\* significativo a 5 e 1%, respectivamente.

Tabela 16: Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos biológicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) no ano de 2009.

Fonte de Variação	G.L	Biomassa microbiana	Meio King's B	Meio TSA 1/10	$\beta$ -glicosidase	Fosfatase Ácida	Arilsulfatase
Sistemas	1	5,38 *	9,37 *	0,56 ns	53,85 **	83,45 **	25,32 **
Culturas	1	3,08 ns	7,76 *	3,75 ns	3,95 ns	1,15 ns	3,58 ns
Sist X Culturas	1	4,89 ns	0,92 ns	0,94 ns	1,11 ns	7,97 *	2,43 ns

ns= não significativo \* , \*\* significativo a 5 e 1%, respectivamente.

### **3.3.4. Carbono da biomassa microbiana do solo**

Assim como no experimento anterior, o cerrado nativo apresentou CBM superior ao das áreas cultivadas no Latossolo Vermelho (Tabelas 17 e 18). Entre as áreas cultivadas, nos dois anos avaliados, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, seja sob PD ou PC, seja com aplicação de FNR ou ST. Um fator que pode estar influenciando os resultados do CBM é o fato deste experimento ter utilizado irrigação complementar e planta de cobertura (milheto), tanto em áreas sob PD, como sob PC, na época seca. De acordo com Wardle et al. (1999), o CBM é positivamente correlacionado com a umidade do solo, assim, como o manejo utilizado no experimento sob Latossolo Vermelho mantém a umidade mais alta e constante, tanto no PD quanto no PC, isto justifica as menores diferenças encontradas entre o CBM neste experimento que aquelas observadas no ensaio sob Latossolo Vermelho Amarelo. Silva et al. (2007) analisaram a influência das plantas de cobertura sobre atributos biológicos do solo e demonstraram sua importância para o CBM. Segundo Mercante et al. (2008), a utilização de plantas de cobertura pode ser uma alternativa para aumentar o desenvolvimento da biomassa microbiana do solo, já que, aliada a sistemas de manejo menos intensivo dos solos, o uso de plantas de cobertura propiciam proteção contínua da superfície, além de promover acréscimos consideráveis no conteúdo total de matéria orgânica (Xavier et al., 2006), principal reservatório de energia para os microrganismos e de nutrientes para as plantas (Perez et al., 2004).

De acordo com Moreira e Siqueira (2006), os microrganismos do solo desempenham papel fundamental no ciclo biogeoquímico do fósforo e na sua disponibilidade para as plantas, mediante o fluxo de P pela biomassa microbiana, a mineralização do P orgânico e a associação entre plantas e fungos micorrízicos. Drever e Vance (1994) destacam a importância das comunidades microbianas em acelerar a dissolução de fosfatos de rocha, produzindo ácidos orgânicos, compostos fenólicos, prótons e sideróforos, sendo que, segundo Duponnois et al. (2005), vários estudos já identificaram grupos de microrganismos capazes de solubilizar o fósforo mineral, melhorando a nutrição de fósforo para as plantas. Apesar de ter tamanha importância, as fontes de fósforo não tiveram efeito sob o CBM no experimento sob Latossolo Vermelho nos dois anos avaliados, seja sob PC ou PD. Rooney e Clipson (2009), avaliando os efeitos da adição de fósforo e sua interação com diversas

plantas sobre as comunidades microbianas de um solo sob pastagem, encontraram CBM menor nos tratamentos que receberam P, e, além disso, observaram que a adição de P teve efeito negativo sobre alguns grupos bacterianos. A adição de fósforo ao solo pode resultar em decréscimo na fração fúngica da biomassa (Lima et al. 1996), e segundo Rooney e Clipson (2009), talvez isto aconteça particularmente pela inibição do crescimento de fungos micorrízicos, que são conhecidos por se proliferar em solos onde há carência de fósforo.

### **3.3.5. Estimativa do número total de bactérias do solo (contagem de unidades formadoras de colônias – UFC)**

Assim como no experimento anterior, a área sob cerrado nativo apresentou menor número de UFC em relação às áreas sob cultivo nos dois anos avaliados, tanto no meio King's B quanto no meio TSA 1/10 no Latossolo Vermelho (Tabelas 17 e 18). Entre as áreas cultivadas, nos dois anos avaliados, não foram observadas diferenças significativas entre a estimativa do número total de bactérias no meio Kings'B. Já no meio TSA 1/10, em 2009 (Tabelas 17 e 19), a área adubada com ST sob PD apresentou menor número de UFC em relação às áreas adubadas com ST sob PC, FNR PD e FNR PC, que não diferiram significativamente entre si. O mesmo não foi observado no ano seguinte, onde não foram observadas diferenças significativas entre o número de UFC das áreas cultivadas.

Carneiro et al. (2004), avaliando a influência do PD, do PC e de plantas de cobertura sobre indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo, encontraram maiores valores de UFC nas áreas cultivadas em relação ao cerrado nativo, o que corrobora os resultados encontrados em nosso estudo. Entretanto, tais autores encontraram maior número de UFC no solo sob PD que nos solos sob PC, fato que, no geral, não foi observado nesse trabalho.

Reyes et al. (2002), analisando as populações microbianas da rizosfera de milho após a adição de adubos fosfatados, observaram que as comunidades bacterianas tendem a diminuir após a adição de fósforo ao solo. O mesmo foi observado por Sarathchandra et al. (1993), quando um pasto na Nova Zelândia foi adubado com fosfato natural da Carolina do Norte em doses de até 120 kg P ha<sup>-1</sup>, tanto as contagens bacterianas quanto as fúngicas diminuíram significativamente

nas parcelas adubadas. Porém, os resultados do presente trabalho parecem estar mais correlacionados com aqueles apresentados por Lima et al. (1996), onde as populações bacterianas de um Latossolo Vermelho, usado no cultivo de tomate, cresceram em função da adição de fósforo. Obviamente, não se pode considerar apenas o fósforo como responsável pelas diferenças entre as áreas naturais e cultivadas encontradas nesse trabalho, e sim o conjunto das práticas de correção e adubação do solo que foram utilizadas.

### **3.3.6. Atividade enzimática**

#### **3.3.6.1. $\beta$ -glicosidase**

Assim como no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, a atividade da  $\beta$ -glicosidase nas áreas sob PD foram superiores às das áreas sob vegetação nativa e do PC nos dois anos avaliados no Latossolo Vermelho (Tabela 17 e 18). Além disso, novamente os tratamentos sob PC apresentaram valores intermediários ao PD e ao cerrado nativo, que apresentou os menores resultados de atividade desta enzima.

Assim como no experimento anterior, a atividade da  $\beta$ -glicosidase nas áreas sob PD foi superior àquelas sob PC, nos dois anos avaliados (Tabelas 17, 18, 19 e 20). No que diz respeito às fontes de fósforo, não foram observadas diferenças entre as áreas adubadas com FNR e ST, sob o mesmo manejo.

Além do que já foi dito na discussão dos resultados obtidos no Latossolo Vermelho Amarelo, os solos do Cerrado são geralmente ácidos, o que pode interferir na atividade da  $\beta$ -glicosidase, que é correlacionada positivamente ao pH do solo (Ekenler e Tabatabai, 2003), outro fator que deve levar as áreas nativas a apresentarem menor atividade desta enzima quando comparada às áreas cultivadas.

A maior atividade da  $\beta$ -glicosidase nos solos sob PD está relacionada ao fato de que a ausência de revolvimento do solo permite o acúmulo, em sua superfície, de resíduos vegetais de menor complexidade que servem de substrato para a atuação dessa enzima (Mendes et al., 2003; Silva, 2008). Nos solos sob PC, o revolvimento do solo não permite esse acúmulo de resíduos, resultando em menor atividade enzimática.

### **3.3.6.2. Fosfatase ácida**

O comportamento da fosfatase ácida foi similar ao observado no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, sendo o solo sob cerrado nativo aquele que apresentou a maior atividade desta enzima, seguido dos solos sob PD e PC no Latossolo Vermelho (Tabelas 17 e 18).

Nos dois anos avaliados, observa-se que os solos manejados com PD apresentaram maior atividade da enzima fosfatase ácida que aqueles sob PC. No que diz respeito às fontes de P utilizadas, apenas em 2010 houve diferença significativa, sendo que as áreas adubadas com ST apresentaram resultado superior àquelas que receberam FNR.

Conte et al. (2002), avaliando os reflexos da aplicação de doses crescentes de fertilizante fosfatado na atividade da fosfatase ácida em solos sob PD, não encontraram influência da adição de P sobre esta enzima. No entanto, Baligar et al. (2005), avaliando os efeitos de doses de P e S sobre as enzimas do solo, relataram diminuição na atividade da fosfatase com o acréscimo de fertilizantes fosfatados. Um fator que pode explicar a falta de diferença entre a atividade da enzima das áreas adubadas com ST e FNR, é alta afinidade do P com os colóides minerais, especialmente os óxidos de ferro e alumínio (Rheineimer et al., 2000), que adsorvem o P e reduzem o seu efeito inibidor sobre a atividade da fosfatase (Conte et al., 2002), assim, independente da fonte utilizada, seja aquela que libera maior ou menor quantidade de P, parte do nutriente disponível ficará retido, diminuindo, assim, a sua influência sob a atividade da fosfatase. De acordo com Carneiro et al. (2004), os elevados níveis de atividade da fosfatase no cerrado nativo associados aos baixos teores de P evidenciam que a mineralização do P orgânico nas áreas nativas é um importante processo de disponibilização desse elemento, fato também verificado por Conte et al. (2002) no Sul do Brasil.

Segundo Mendes et al. (2003), a maior atividade da fosfatase ácida, no PD, em relação ao PC, pode ser atribuída ao menor revolvimento do solo, favorecendo, na área de PD, uma maior concentração do adubo fosfatado na camada superficial. Dessa forma, a inibição das fosfatases por esses adubos não é tão acentuada como no PC, onde eles são misturados ao solo.

### 3.3.6.3. Arilsulfatase

A atividade da arilsulfatase foi, novamente, maior nas áreas sob PD, que aquelas sob PC, no Latossolo Vermelho (Tabelas 17, 18, 19 e 20). Apenas em 2009, sob PD, foi observado efeito da fonte de P, sendo que os solos adubados com FNR apresentaram maior atividade da arilsulfatase que aqueles adubados com ST, sob o mesmo manejo.

O fato de este experimento ter recebido planta de cobertura no inverno pode ter aumentado a atividade da arilsulfatase nos solos sob PC, já que, segundo Speir e Ross (1978), a natureza da vegetação de cobertura pode influenciar o nível de atividade das enzimas do solo, além disso, a irrigação suplementar mantém a umidade do solo no período seco, fator que também interfere na atividade enzimática (Lisboa, 2009).

A maior concentração dos ânions fosfato no PD (Tabelas 5 e 6) pode estar relacionada às maiores atividades da arilsulfatase nesse sistema de manejo, pois os ânions  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e  $\text{SO}_4^{2-}$  competem entre si pelos mesmos sítios de adsorção nos colóides do solo. Como o ânion  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  é adsorvido preferencialmente nesses sítios (Tisdale et al., 1993), essa competição acarretaria uma lixiviação do ânion sulfato das camadas superficiais gerando uma deficiência de S que resultaria em uma maior atividade da arilsulfatase na área sob PD. Esta justificativa também vale para o experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, onde também se observou maior quantidade de P extraível nos solos manejados com PD (Tabelas 1 e 2).

Ainda de acordo com as tabelas de análises químicas e biológicas do solo (Tabelas 1, 2, 5, 6; 13, 14, 17 e 18), observa-se que os solos sob PD apresentaram maiores valores de matéria orgânica e arilsulfatase que aqueles sob PC, isto pode ser explicado pelo fato da atividade desta enzima estar diretamente relacionada aos níveis de matéria orgânica, que constitui a principal reserva de ésteres de sulfato no solo (Nogueira e Mello, 2003) e desempenha um papel fundamental no estabelecimento do nível de atividade da arilsulfatase (Baligar et al., 2005).

Nas tabelas 17 e 18, pode-se observar que os tratamentos que receberam FNR tiveram, no geral, maiores valores de atividade da arilsulfatase, e nas tabelas 5 e 6, observa-se que estes tratamentos apresentaram menor quantidade de P extraível pela metodologia Bray1. Estes resultados vão de encontro ao observado por Baligar et al. (2005), que não observaram efeitos significativos da adição de doses

crescentes de P sobre a arilsulfase, porém, foi encontrada relação positiva, mas não significativa, entre a atividade desta enzima e o P extraível.

Acosta-Martínez e Tabatabai (2000), avaliando os efeitos da calagem sobre várias enzimas do solo, relataram a grande influencia exercida pelo pH em suas atividades. Eles observaram que a arilsulfatase teve sua atividade aumentada quando o pH também aumentou. Os autores também relatam que o aumento do pH, causado pela calagem, tem efeito sobre as reações químicas e bioquímicas e em processos microbiológicos, além disso, resulta em mudanças na solubilidade de muitos compostos químicos e melhora o ambiente e desenvolvimento das raízes das plantas (Naftel 1965), aumenta a dinâmica e a diversidade microbiana, e, portanto, causa alterações significativas na atividade das enzimas (Zelles et al., 1990, Bardgett e Leemans 1995). De acordo com Speir e Ross (1978), além da calagem, as práticas de manejo, a natureza da vegetação de cobertura e a adição de adubos, orgânicos e inorgânicos, podem influenciar o nível de atividade das enzimas do solo.

Tabela 17: Propriedades biológicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com milho (ano 2009), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

	<b>Biomassa Microbiana</b> mg C kg <sup>-1</sup> solo	<b>Meio King's B</b> log n° UFC g <sup>-1</sup> solo	<b>Meio TSA 1/10</b> log n° UFC g <sup>-1</sup> solo	<b>β-glicosidase</b> μg p-nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>	<b>Fosfatase Ácida</b> μg p-nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>	<b>Arilsulfatase</b> μg p-nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>
<b>PC ST</b>	426,24	6,50	6,64 a	157,89	895,14	77,84 c
<b>PC FNR</b>	371,04	6,50	6,57 a	158,61	898,85	87,40 c
<b>PD ST</b>	479,74	6,27	6,35 b	212,83	1012,54	104,17 b
<b>PD FNR</b>	514,26	6,59	6,65 a	220,35	1029,02	167,80 a
<b>Média de sistemas</b>						
<b>PD</b>	497,00	6,43	6,500	216,59 a	1020,78 a	135,95
<b>PC</b>	398,64	6,50	6,605	158,25 b	896,99 b	82,62
<b>Média de fontes</b>						
<b>FNR</b>	442,65	6,545	6,61	189,48	963,93	127,6
<b>ST</b>	452,99	6,385	6,495	185,36	953,84	91,00
<b>Cerrado</b>	598,94 ± 8,40	5,43 ± 0,16	5,65 ± 0,07	62,84 ± 3,98	1262,29 ± 55,82	70,80 ± 5,03

Valores seguidos por mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ). Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 18: Propriedades biológicas na profundidade 0 a 10 cm em um Latossolo Vermelho sob vegetação nativa (cerrado) e cultivado com soja (ano 2010), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

	<b>Biomassa Microbiana</b>	<b>Meio King's B</b>	<b>Meio TSA 1/10</b>	<b><math>\beta</math>-glicosidase</b>	<b>Fosfatase Ácida</b>	<b>Arilsulfatase</b>
	mg C kg <sup>-1</sup> solo	log n° UFC g <sup>-1</sup> solo	log n° UFC g <sup>-1</sup> solo	µg <i>p</i> -nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>	µg <i>p</i> -nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>	µg <i>p</i> -nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>
<b>PC ST</b>	322,46	6,99	6,73	113,20	530,82	66,69
<b>PC FNR</b>	298,19	6,89	6,91	103,36	475,96	66,88
<b>PD ST</b>	319,90	6,80	6,83	156,77	737,69	96,34
<b>PD FNR</b>	372,05	6,69	6,78	168,15	702,35	138,53
<b>Média de sistemas</b>						
<b>PD</b>	345,95	6,745	6,805	162,46 a	720,02 a	117,43 a
<b>PC</b>	310,32	6,94	6,82	108,28 b	503,39 b	66,78 b
<b>Média de fontes</b>						
<b>FNR</b>	335,12	6,79	6,845	135,75	589,15 b	102,7
<b>ST</b>	321,18	6,895	6,78	134,98	634,25 a	81,51
<b>Cerrado</b>	516,84 ± 34,67	5,35 ± 0,12	5,27 ± 0,17	59,06 ± 9,36	950,33 ± 129,02	71,07 ± 4,12

Valores seguidos por mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ). Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 19: Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos biológicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com milho (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

Fonte de Variação	G.L	Biomassa microbiana	Meio King's B	Meio TSA 1/10	$\beta$ -glicosidase	Fosfatase Ácida	Arilsulfatase
Sistemas	1	4,06 ns	0,83 ns	3,46 ns	116,45 **	19,20 *	128,44 **
Fonte de P	1	0,17 ns	4,32 ns	3,64 ns	0,58 ns	0,39 ns	60,40 **
Sist X Fonte de P	1	3,29 ns	3,85 ns	9,63 *	0,40 ns	0,16 ns	32,98 **

ns= não significativo \* , \*\* significativo a 5 e 1%, respectivamente.

Tabela 20: Valores de F e respectivos níveis de significância, para os atributos biológicos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com soja (ano 2010) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

Fonte de Variação	G.L	Biomassa microbiana	Meio King's B	Meio TSA 1/10	$\beta$ -glicosidase	Fosfatase Ácida	Arilsulfatase
Sistemas	1	4,18 ns	5,97 ns	0,01 ns	51,01 **	134,60 **	13,54 *
Fonte de P	1	0,64 ns	1,79 ns	0,27 ns	0,01 ns	5,83 *	5,68 ns
Sist X Fonte de P	1	4,80 ns	0,00 ns	0,94 ns	2,26 ns	0,27 ns	5,58 ns

ns= não significativo \* , \*\* significativo a 5 e 1%, respectivamente.

### 3.4. Análise de componentes principais

Nos resultados das análises de componentes principais (PCA), observa-se a representação (Figuras 3 e 4), em duas dimensões, da distribuição dos tratamentos avaliados de acordo com a variabilidade dos dados das propriedades dos solos consideradas em uma matriz primária, obtida a partir dos resultados das análises químicas, físicas e biológicas no Latossolo Vermelho Amarelo. A dispersão dos escores obtidos para cada um dos tratamentos em um sistema de eixos cartesianos, representado pelos componentes principais, permite visualizar as semelhanças entre os tratamentos com base nas “n” variáveis analisadas, maximizando o aproveitamento da variabilidade disponível.

Apenas os eixos 1 e 2 foram interpretados, pois, o eixo 3, ou não foi significativo ou explicava pouco da variação. O Cerrado foi retirado das análises, pois, com sua presença, as diferenças entre os demais tratamentos eram subestimadas. Isto ocorreu dada a grande discrepância entre as áreas cultivadas e o cerrado nativo, fato observado ao decorrer de todo o trabalho.

Tanto em 2008 quanto em 2009, observa-se que as áreas sob PD e PC formaram dois grupos distintos, enfatizando, assim, a influência que o manejo do solo exerce sobre suas características. Em 2009 ainda é possível observar que, entre as áreas sob PD, há a formação de dois grupos, apontando possíveis interferências causadas pelas culturas utilizadas, milho e soja, já nas áreas sob PC, essa diferenciação não é tão nítida.

Quanto maior o comprimento dos raios, mais correlacionada é a variável com o eixo ao qual é paralela. Raios oblíquos correlacionam-se com os dois eixos. Em 2008, o eixo 1 explicou 59% da variabilidade total dos dados, sendo que a variável que mais se correlacionou com este eixo foi o Al. Os demais atributos presentes na figura 3 (fosfatase ácida; arilsulfatase; estimativa do número total de bactérias do solo obtida com o meio TSA; densidade do solo, MO, Ca; Mg; valor S; valor T e valor V) tiveram maior correlação com o eixo 2, e foram os principais responsáveis pela diferenciação entre as áreas sob PD e PC. Entre tais atributos, destaca-se o comportamento da densidade do solo, propriedade que apontou com grande intensidade para os tratamentos sob PC, que apresentaram os maiores resultados para esta característica (Tabela 9). Ao se observar as tabelas das análises químicas

e biológicas (Tabelas 1, 2, 5, 6; 13, 14, 17 e 18) nota-se que os demais atributos citados apresentaram valores consideravelmente maiores nos solos sob PD que aqueles sob PC.

Em 2009 (Figura 4), o eixo 1 explicou 67% da variabilidade total dos dados, e a variável que mais se correlacionou com este eixo foi a biomassa microbiana dos solos, atributo que também foi o maior responsável pela diferenciação entre as áreas sob PD cultivadas com milho e soja. Tal fato pode ser comprovado ao se observar a tabela 14, já que a quantidade de biomassa presente na área cultivada com milho sob PD é 60% superior àquela encontrada na área semeada com soja, sob o mesmo manejo, o que já foi discutido nos resultados das análises biológicas.

O eixo 2 explicou 30% da variabilidade total dos dados, e foi mais fortemente correlacionado com as variáveis valor T, fosfatase ácida e  $\beta$ -glicosidase, sendo que os demais atributos (arilsulfatase, Al, P, Ca, Mg, valor S e valor V) tiveram correlação com ambos os eixos. Os atributos que apresentam maior correlação com o eixo 2 são os principais responsáveis pela diferenciação entre as áreas manejadas com PC e PD, e podem ser comprovadas observando-se as tabelas 14 e 2, como, por exemplo, a  $\beta$ -glicosidase, que apresentou resultado até 72% superior nos solos sob PD que aqueles sob PC.

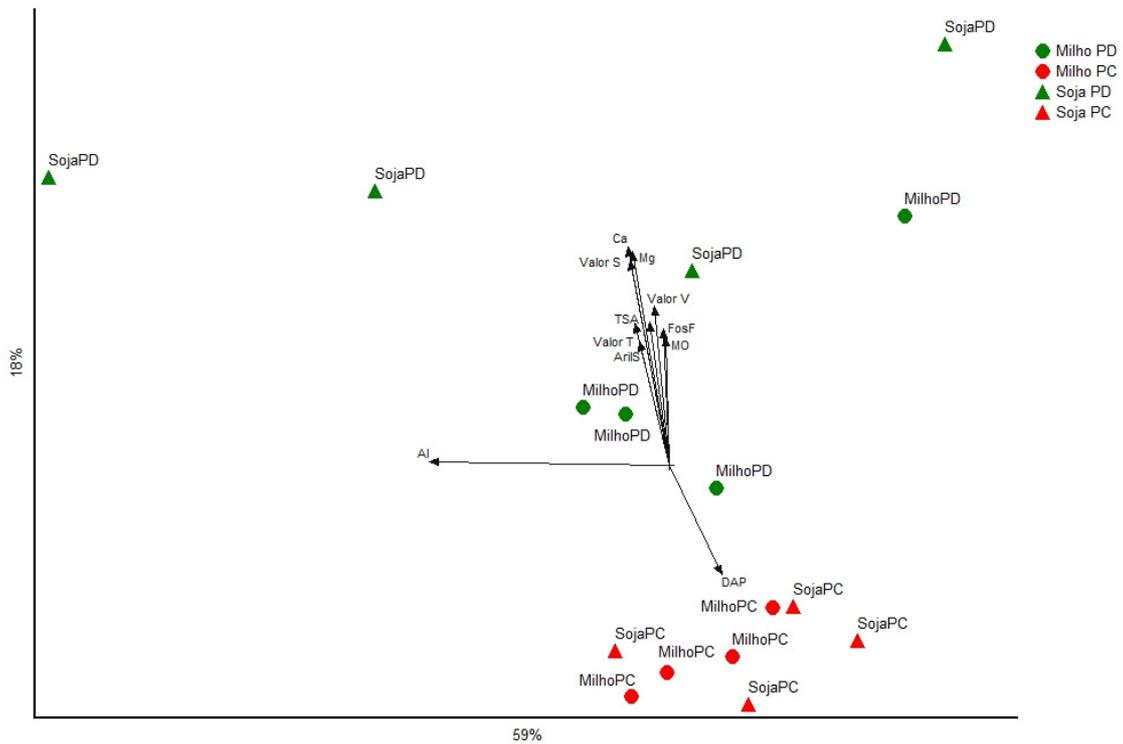


Figura 3: Análises de componentes principais (PCA) representando a distribuição dos tratamentos no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo (2008), cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), de acordo com a variabilidade dos dados das propriedades dos solos consideradas na matriz primária.

Legenda: PD = Plantio Direto; PC = Preparo Convencional; FosfF = Fosfatase ácida; ArilS = Arilsulfatase; TSA = Estimativa do número total de bactérias do solo obtida com o meio TSA; DAP = Densidade do solo, MO = Matéria orgânica, Al = Alumínio; Ca = Cálcio; Mg = Magnésio; Valor S = Soma de bases; Valor T = Soma de Bases + H + Al; Valor V = Valor S / Valor T.

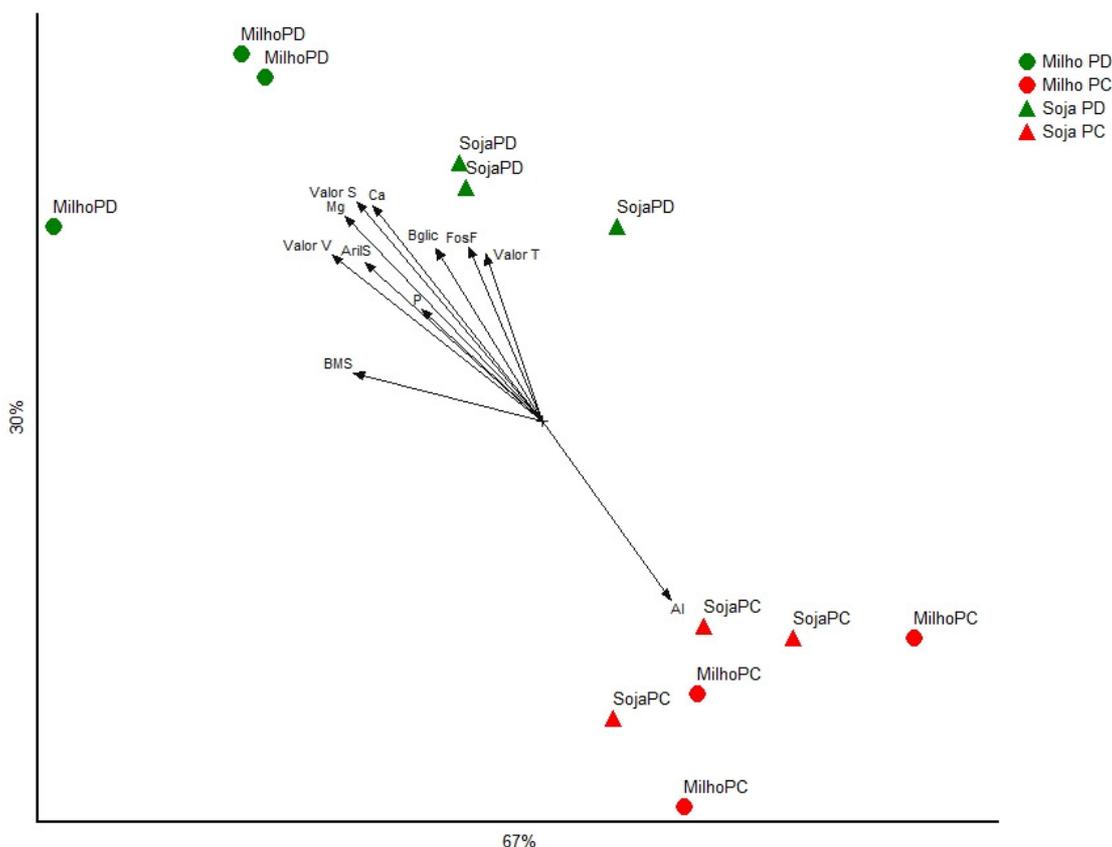


Figura 4: Análises de componentes principais (PCA) representando a distribuição dos tratamentos no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo (2009), cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), de acordo com a variabilidade dos dados das propriedades dos solos consideradas na matriz primária.

Legenda: PD = Plantio Direto; PC = Preparo Convencional; BMS = Biomassa Microbiana do Solo; Bglic =  $\beta$ -glicosidase; FosF = Fosfatase ácida; ArilS = Arilsulfatase; Al = Alumínio; P = Fósforo; Ca = Cálcio; Mg = Magnésio; Valor S = Soma de bases; Valor T = Soma de Bases + H + Al; Valor V = Valor S / Valor T.

Assim como no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, apenas os eixos 1 e 2 foram interpretados no Latossolo Vermelho, pois, o eixo 3, ou não foi significativo ou explicava muito pouco da variação. Novamente o Cerrado foi retirado das análises, pelos mesmos motivos citados no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo.

Nos dois anos avaliados (Figura 5 e 6), observa-se que as áreas sob PD e PC formaram dois grupos distintos, demonstrando a forte influência causada pelo manejo do solo, o que reforça os resultados encontrados no experimento sob

Latossolo Vermelho Amarelo. Em 2009, sob a cultura do milho, há uma clara divisão entre os solos adubados com ST e FNR, que comprovam que a fonte de adubo fosfatado pode causar múltiplas alterações nos atributos do solo. Desse modo, observa-se, facilmente, a formação de quatro grupos, são eles: ST PD, ST PC, FNR PD e FNR PC. Já em 2010, sob a cultura da soja, tal diferença não é tão evidente quanto em 2009, sendo observado três grupos: ST PD, FNR PD e as duas áreas sob PC, que ficaram mais agrupadas.

No que diz respeito aos eixos e atributos, observa-se que, em 2009 (Figura 5), o eixo 1 foi responsável por 82% da variabilidade, sendo que os atributos que mais se correlacionaram com este eixo foram o pH e a quantidade de P (obtida via Bray 1), estes dois atributos foram os principais responsáveis pela diferenciação entre as áreas adubadas com ST e FNR. Tal fato é confirmado e explicado pelos valores encontrados na tabela de atributos químicos (Tabela 5), onde nota-se que as áreas adubadas com ST, por ser uma fonte altamente solúvel, apresentaram quantidade de P até 292% superior àquelas encontradas sob FNR, sendo o pH destas áreas mais baixo, graças a uma provável acidificação causada pela hidrólise do ST. A  $\beta$ -glicosidase foi o atributo que exerceu maior influência sob o eixo 2, que explicou 14% da variabilidade total dos dados, sendo, também, a principal responsável pela diferenciação entre os solos manejados com PD e PC, resultado corroborado pelos dados observados na tabela 17, onde a atividade da  $\beta$ -glicosidase encontrada nos solos sob PD foi até 38% superior que aquela encontrada nas áreas sob PC. Os demais atributos (arilsulfatase, P, Ca, Valor S, e Valor V) tiveram correlação com ambos os eixos, influenciando, assim, na diferenciação entre PD e PC e entre ST e FNR.

No experimento conduzido sob a cultura da soja, durante o ano de 2010, o eixo 1 foi responsável por 65% da variabilidade total dos dados, sendo que o eixo 2 corresponde pelos 35% restantes. O eixo 2 foi o principal responsável pela diferenciação entre as áreas cultivadas sob PD e PC, e os atributos que tiveram maior correlação com este eixo foram a  $\beta$ -glicosidase, a arilsulfatase, o Mg e a matéria orgânica do solo. Observando os resultados das análises químicas e biológicas (Tabelas 6 e 18), comprova-se a forte influência que os atributos citados exercem na diferenciação das áreas. Entre os atributos químicos, a quantidade de Mg nas áreas sob PD chegou a ser 47% superior à encontrada nos solos sob PC, enquanto que a MO apresentou, no máximo, um acréscimo de até 19%. Entre os

atributos biológicos, a  $\beta$ -glicosidase apresentou, nos solos sob PD, atividade até 62% superior àquela encontradas nas áreas sob PC, já a arilsulfatase esta diferença chegou a 107%.

Nos dois experimentos realizados, observa-se que diversos atributos químicos contribuíram para a diferenciação entre PC e PD, ressaltando a importância que o manejo do solo exerce sobre sua fertilidade. Entre as propriedades biológicas, destaca-se a atividade enzimática, que apareceu associada ao PD em todas as análises de PCA realizadas, demonstrando seu poder de diferenciação entre as práticas de cultivo.

Entre as três enzimas estudadas, a que mais se destacou foi a arilsulfatase, cuja atividade esteve sempre presente como parâmetro importante para separação das áreas sob diferentes manejos, o que não aconteceu com nenhum outro atributo, seja ele químico, físico ou biológico. Mendes et al. (2005), avaliando o uso de parâmetros biológicos como indicadores de alterações no solo, encontraram aumentos significativos na atividade desta enzima em todas as áreas sob PD avaliadas quando comparadas a uma área sob PC, inclusive onde o PD havia sido implantado há apenas um ano.

A atividade da  $\beta$ -glicosidase foi o segundo atributo biológico que mais apareceu nas análises, presente no experimento sob LVA em 2009 (Figura 4) e nos dois anos do experimento sob LV (Figuras 5 e 6). Silva (2008), avaliando atributos químicos, físicos e biológicos de diversos agroecossistemas em solos de Cerrado, obteve resultados onde a  $\beta$ -glicosidase apontou com alta intensidade para as áreas sob PD, o que também foi observado neste trabalho. A fosfatase ácida, que aparece na representação gráfica dos resultados de PCA nos dois anos no experimento sob LVA apontando à favor do PD, também foi destacada por Mendes et al. (2005) como indicador sensível para diferenciação de áreas sob PD e PC.

Silva (2008) concluiu, com auxílio da análise de componentes principais, que os atributos microbiológicos apresentam alta sensibilidade para diferenciar os sistemas estudados, fato que corrobora o encontrado em nosso trabalho e é citado, também, por outros autores (Doran, 1980; Dick, 1994; Trasar-Cepeda et al., 1998). Além disso, de acordo com Mendes et al. (2005), as enzimas do solo são capazes de detectar alterações no funcionamento biológico do solo antes mesmo que ocorram mudanças significativas em outras propriedades, como no teor da biomassa

microbiana, evidenciando seu potencial como indicadores sensíveis ao manejo do solo.

Diante dos resultados apresentados se pode concluir que a atividade enzimática pode ser utilizada como um indicador da qualidade de solos, já que, além de ser sensível ao manejo se encontra envolvida em diversas transformações biogeoquímicas, como os ciclos do carbono ( $\beta$ -glicosidase), fósforo (fosfatase ácida) e enxofre (arilsulfatase).

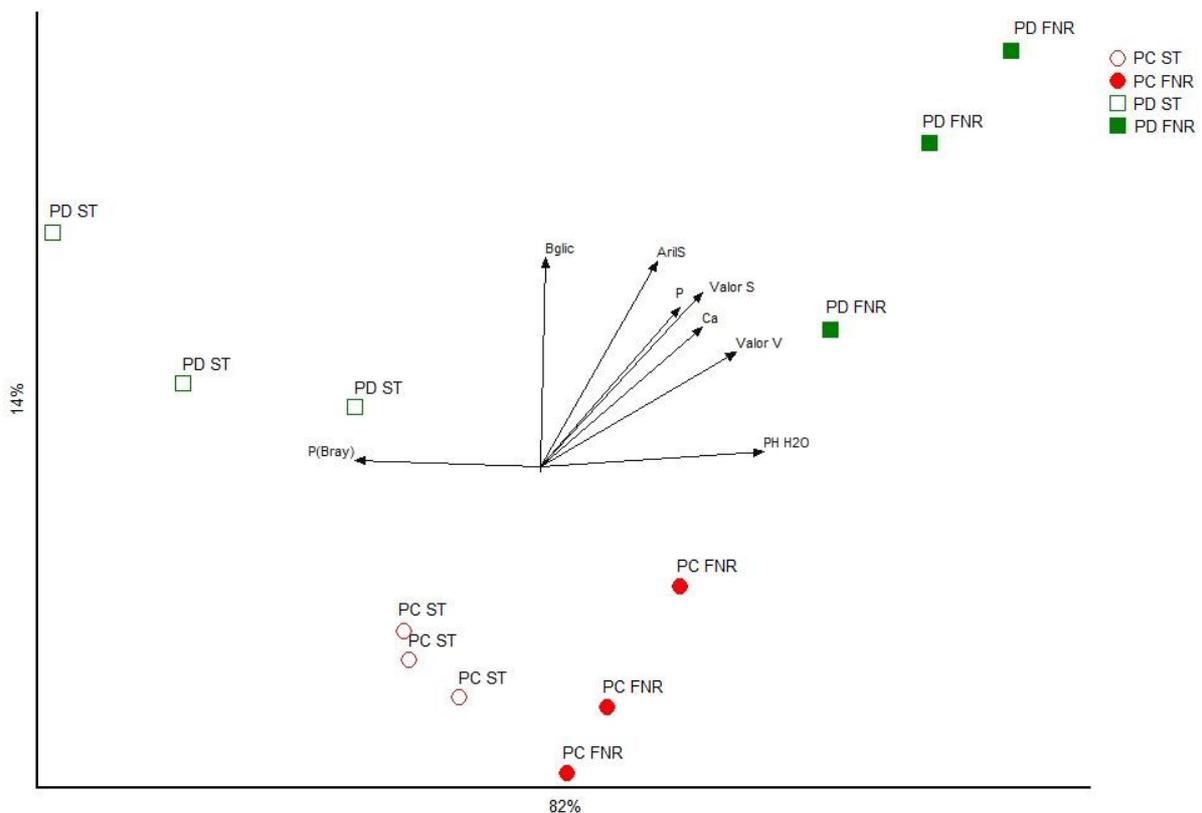


Figura 5: Análises de componentes principais (PCA) representando a distribuição dos tratamentos no experimento sob LV cultivado com milho (2009), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubado com superfosfato triplo (ST) e fosfato natural reativo (FNR), de acordo com as similaridades nas propriedades dos solos consideradas na matriz primária.

Legenda: PD = Plantio Direto; PC = Preparo Convencional; ST = Superfosfato triplo; FNR = Fosfato natural reativo; Bglic =  $\beta$ -glicosidase; ArilS = Arilsulfatase; P = Fósforo; P(Bray) = Fósforo obtido pela metodologia Bray1; Ca = Cálcio; Valor S = Soma de bases; Valor V = Valor S / Valor T, PH H2O = pH em água.

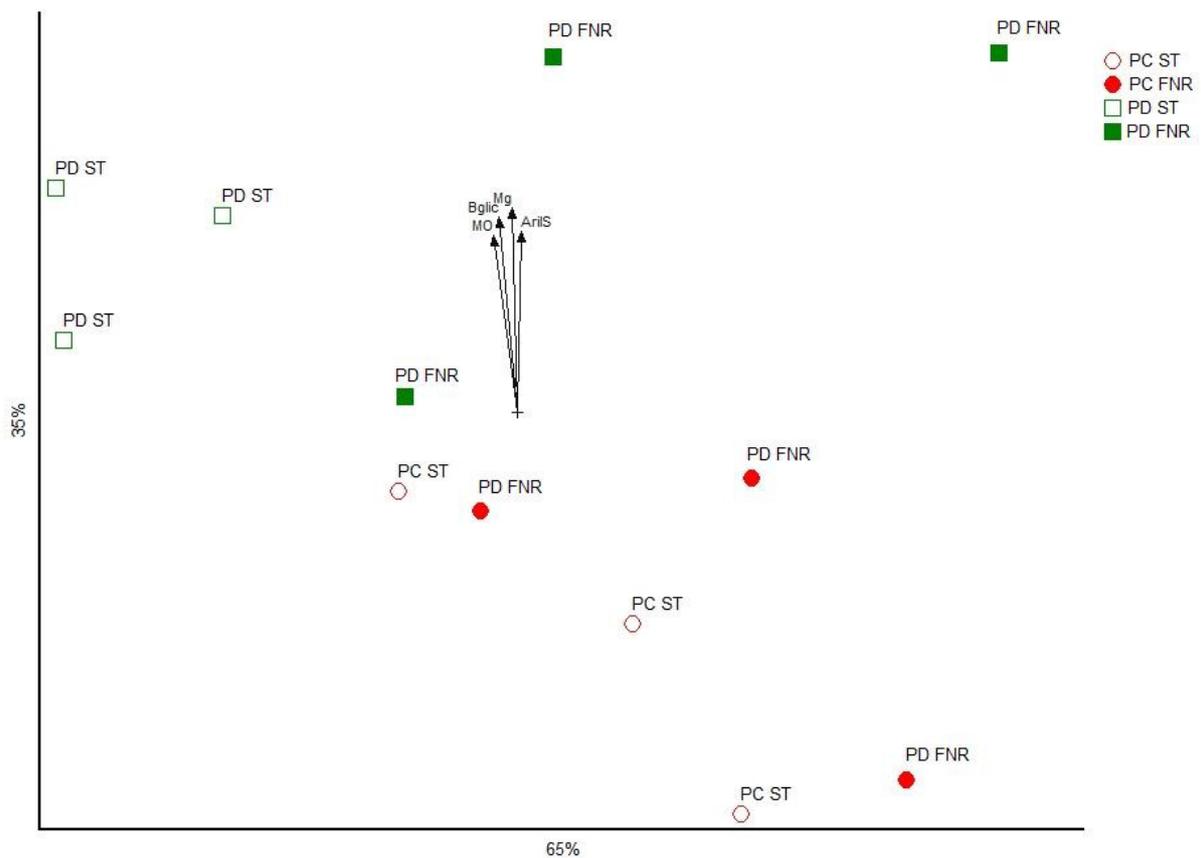


Figura 6: Análises de componentes principais (PCA) representando a distribuição dos tratamentos no experimento sob LV cultivado com soja (2010), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubado com superfosfato triplo (ST) e fosfato natural reativo (FNR), de acordo com as similaridades nas propriedades dos solos consideradas na matriz primária.

Legenda: PD = Plantio Direto; PC = Preparo Convencional; ST = Superfosfato triplo; FNR = Fosfato natural reativo; Bglic =  $\beta$ -glicosidase; ArilS = Arilsulfatase; Mg = Magnésio; MO = Matéria orgânica.

#### 4. CONCLUSÕES

- As práticas agrícolas promoveram alterações nas características químicas, físicas e biológicas dos solos.
- Solos sob plantio direto apresentaram melhores condições físicas, níveis de nutrientes e propriedades biológicas que aqueles sob preparo convencional.
- A análise de componentes principais agrupou e diferenciou os solos de acordo com o manejo utilizado.
- Dentre os atributos avaliados, as atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e, especialmente, a arilsulfatase, demonstraram alta sensibilidade ao manejo, sendo o seu uso indicado para se avaliar a qualidade dos solos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; TABATABAI, M.A.; Enzyme activities in a limed agricultural soil. **Biology & Fertility of Soils**, v.31, p.85–91, 2000.

ADDISCOTT, T.M.; THOMAS, D. Tillage, mineralization and leaching: phosphate. **Soil & Tillage Research**, v.53, p.255-273, 2000.

ANGHINONI, I.; XV – Fertilidade do solo e seu manejo em sistema plantio direto. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; (eds.) **Fertilidade do solo**. SBCS Viçosa, 873 – 928 pp. 2007.

ARAÚJO, R.; GOEDERT, W.J.; LACERDA, M.P.C.; Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1099-1108, 2007.

BALIGAR, V. C., WRIGHT, R. J. AND HERN, J. L.; Enzyme Activities in Soil Influenced by Levels of Applied Sulfur and Phosphorus, **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.36, p.13, 1727 — 1735, 2005.

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. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.22, p.641–649. 1998.

BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; DICK, R.P.; Long-term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization in a Brazilian oxisol. **Soil Tillage & Research**, v.77, p.137-145, 2004.

BANDICK, A.K.; DICK, R.P. Field management effects on soil enzymes activities. **Soil Biology & Biochemistry**, v.31, p.1471-1479, 1999.

BARDGETT, R.D.; LEEMANS, D.K.; The short effects of cessation of fertilizer applications, liming, and grazing on microbial biomass and activity in a reseeded upland grassland soil. **Biology & Fertility of Soils**, v.19, p.148–154, 1995.

BAYER, C. **Dinâmica da matéria orgânica em sistemas de manejo de solos**. 241p. (Tese de doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1996.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; MARTIN-NETO, L.; Efeito de sistemas de preparo e de cultura na dinâmica da matéria orgânica e na mitigação das emissões de Co<sub>2</sub>. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p. 599-607, 2000.

BOPAI AH, B.M.; SHETTI, H.S.; Soil microflora and biological activities in the rhizospheres and root regions of coconutbased multistoreyed cropping and coconut monocropping systems. **Soil Biology & Biochemistry**, v.17, p.297-302, 1991.

BORGES, A.L.; KIEHL, J.C.; SOUZA, L.S.; Alteração de propriedades físicas e atividade microbiana de um Latossolo Amarelo álico após o cultivo com fruteiras perenes e mandioca. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p.1019-1025, 1999.

BRAY, R.H.; KURTZ, L.T.; Determination of total organic and available forms of phosphorus in soils; **Soil Science**, v.59, p.39 – 45, 1945.

BRONICK, C.J.; LAL, R.; Soil structure and management: A review. **Geoderma**, v.124, p.3-22, 2005.

BURLE, M.L.; MIELNICZUK, J.; FOCCHI, S.; Effect of cropping systems on soil chemical characteristics, with emphasis on soil acidification. **Plant Soil**, v.190, p.309 – 316, 1997.

CALEGARI, A.; **Seqüestro de carbono, atributos físicos e químicos em diferentes sistemas de manejo em um Latossolo Argiloso do Sul do Brasil.** (Tese de Doutorado), Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 191p. 2006.

CARNEIRO, R.G.; MENDES, I.C.; LOVATO, P.E.; CARVALHO, A.M.; VIVALDI, L.J.; Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.661-669, 2004.

CARNEIRO, M.A.C.; SOUZA, E.D.; REIS, E.F.; PEREIRA, H.S.; AZEVEDO, W.R.; Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.147-157, 2009.

CARVALHO, Y.; **Densidade e atividade dos microrganismos do solo em plantio direto e convencional, na região de Carambeí – PR.** (Dissertação de Mestrado) Universidade Federal do Paraná, 108p. 1997.

CFSEMG – Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ V, V.H.; (eds). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. 5ª aproximação.** Viçosa, MG, 359p. 1999.

CONTE, E.; ANGHINONI, I.; RHEINHEIMER, D.S. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatase ácida após aplicação de fosfato em solo no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.925-930, 2002.

COSTA, F.S.; ALBUQUERQUE, J.A.; BAYER, C.; FONTOURA, S.M.V.; WOBETO, C. Propriedades físicas de um Latossolo Bruno afetada pelos sistemas plantio direto e preparo convencional. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.527-535, 2003.

COSTA, E.A.; GOEDERT, W.J.; SOUSA, D.M.G.; Qualidade de solo submetido a sistemas de cultivo com preparo convencional e plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.1185-1191, 2006.

CORREIA, N.M.; DURIGAN, J.C.; Culturas de cobertura e sua influência na fertilidade do solo sob sistema de plantio direto (SPD). **Bioscience Journal**, v.24, p.20 - 31, 2008.

CRUZ-CASTILHO, J.G.; GANESHANANDAM, S.; MACKAY, B.R.; LAWES, G.S.; LAWOKO, C.R.O.O.; WOOLLEY, D.J.; Applications of canonical discriminat analysis in horticultural research. **Horticultural Science**, v.29, p.1115 - 1119, 1994.

DICK, R.P.; Soil enzymes 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. **Soil Science Society of America** v.35, p.107 – 124, 1994.

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

DREVER, J.I.; VANCE, G.F.; Role of soil organic acids in mineral weathering processes. In: LEWAN, M.D.; PITTMAN, E.D.; (eds.). **The role of organic acids in geological processes**. Spring, p 138 – 161. 1994

DUPONNOIS, R.; COLOMBET, A.; HIEN, V.; THIOULOUSE, J.; The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence of *Acacia holosericea*. **Soil Biology & Biochemistry**, v.37, p.1460 – 1468. 2005.

EKENLER, M.; TABATABAI, M.A.; Effects of liming and tillage systems on microbial biomass and glycosidases in soils. **Biology & Fertility of Soils**, v.39, p.51–61, 2003.

EMBRAPA; Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Rio de Janeiro - RJ, **Manual de métodos de análises de solo**. 2 ed. rev. atual. 212 p. 1997.

FALLEIRO, R.M.; SOUZA, C.M.; SILVA, C.S.W.; SEDIYAMA, C.S.; SILVA, A.A.; FAGUNDES, J.L.; Influência dos sistemas de preparo nas propriedades químicas e físicas do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.1097-1104, 2003.

FERREIRA, E.A.B.; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C.; RAMOS, M.L.G.; Dinâmica do carbono da biomassa microbiana em cinco épocas do ano em diferentes sistemas de manejo do solo no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1625-1635, 2007.

FIGUEIREDO, C.C.; SANTOS, G.G.; PEREIRA, S.; NASCIMENTO, J.L.; ALVES JÚNIOR, J.; Propriedades físico-hídricas em Latossolo do Cerrado sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, p.146–151, 2009.

FRANCHINI, J.C.; CRISPINO, C.C.; SOUZA, R.A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M.; Microbiological parameters as indicators of soil quality under various tillage and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil Tillage & Research**, v.92, p.18 - 29, 2007.

FREITAS Jr., SILVA, E.M.; Uso da centrífuga para a determinação da curva de retenção de água no solo, em uma única operação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.19, p.1423 - 1428, 1984.

GOMES, N.C.M.; HEUER, H.; SCHONFELD, J.; COSTA, R.; MENDONÇA-HAGLER, L.; SMALLA, K.; Bacterial diversity of the rhizosphere of maize (*Zea mays*) grown in

tropical soil studied by temperature gradient gel electrophoresis. **Plant & Soil**, v.232, p.67 - 180, 2001.

GREEN, V.S.; STOTT, D.E.; CRUZ, J.C.; CURI, N.; Tillage impacts on soil biological activity and aggregation in a Brazilian Cerrado Oxisol; **Soil & Tillage Research**, v.92, p.114 – 121, 2007.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO JUNIOR, O.; KASCHUK, G; SOUZA, R.A.; Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v.42, p.288 – 296, 2009.

JACKSON, M.L.; Analisis quimico de suelos. Barcelona: Omega, p.282-309. 1982.

KAMEL, Z.; KHALIL, M.S.; SHALABY, A.M. Calcium and biological activities of two *Streptomyces* species isolated, from the rhizosphere of soybean plants. **Journal of Basic Microbiology**. v.29, p.31-39, 1989.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M.; Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology & Biochemistry**; v.42, p.1–13. 2010.

LIMA, J.A.; NAHAS, E.; GOMES, A.C.; Microbial populations and activities in sewage sludge and phosphate fertilizer amended soil. **Applied Soil Ecology**. v.4, p.47 – 82. 1996.

LISBOA, B.B.; **Parâmetros microbiológicos como indicadores de qualidade do solo em sistemas de manejo**. (Dissertação de Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul / Faculdade de Agronomia. 77p. 2009.

MACIEL, M.M.F.; MELO, W.J.; CHELLI, R.A.; LEITE, S.A.S. **Biomassa microbiana de solos sob vegetação de cerrado e diferentes usos agrícolas em Planaltina**

(DF). In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DO SOLO, 13., Águas de Lindóia. Anais. Águas de Lindóia, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. CD-ROM. 1996.

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 Ciência do Solo**, v.27, p.425-433, 2003.

MENDES, I. C. **Impactos de sistemas agropecuários na atividade enzimática e biomassa microbiana dos solos de Cerrado**. In: II CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA/MERCOSOJA 2002, Foz do Iguaçu. Anais do II Congresso de Soja: Perspectivas do agronegócio da soja. p. 246-257. 2002.

MENDES, I.C.; ESCOPEL, E.; REIS JUNIOR, F.B.; MARCHETTI, A.D.; **Indicadores Biológicos em solos de propriedades rurais sob plantio direto e convencional na região de Rio Verde - GO**. In: XXX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2005, Recife. XXX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo - Solos, Sustentabilidade e Qualidade Ambiental, 2005.

MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B.; **Uso de parâmetros microbiológicos como indicadores para avaliar a qualidade do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas**. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 34 pp. 2004.

MENDES, I.C.; SOUZA, L.V.; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C.; Propriedades biológicas em agregados de um Latossolo Vermelho-Escuro sob plantio convencional e direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.435-443, 2003.

MERCANTE, F.M.; GUIMARÃES, J.B.R.; MANJABOSCO, A.D.; SOARES, A.S.; BRAGA, A.C.A.; ALMEIDA, K.A. **Alterações na biomassa microbiana do solo submetido a diferentes sistemas de manejo e rotações/sucessões de culturas**. In: Reunião Brasileira de fertilidade do solo e nutrição de plantas, 24.; Reunião Brasileira sobre micorrizas, 8.; Simpósio Brasileiro de microbiologia do solo, 6.; Reunião Brasileira de biologia do solo, 3., Santa Maria, 2000. Anais. Santa Maria,

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/Sociedade Brasileira de Microbiologia. CD-ROM. 2000.

MERCANTE, F.M.; SILVA, R.F. da; FRANCELINO, C.S.F.; CAVALHEIRO, J.C.T.; OTSUBO, A.A. Biomassa microbiana, em um Argissolo Vermelho, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.34, p.479-485, 2008.

MIJANGOS, I.; PÉREZ, R.; ALBIZU, I.; GARBISU, C.; Effects of fertilization and tillage on soil biological parameters. **Enzyme and Microbial Technology**, v.40, p.100–106, 2006.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 729 p. 2006.

MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E.; MORAES, L.A.C.; Eficiência de fontes e doses de fósforo na alfafa e centrosema cultivadas em Latossolo Amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.1459 - 1466, 2002.

NAFTEL, J.A.; Soil liming investigations. III. The influence of calcium and a mixture of calcium and magnesium carbonates on certain chemical changes of soils. **Journal of the American Society of Agronomy**, v.29, p.526–536, 1965.

NEWELL, S.Y.; MILLER, J.D.; FALLON, R.D. Ergosterol content of salt marsh fungi: effect of growth conditions and mycelial age. **Mycologia**, v.79, p.688-695, 1987.

NICOLODI, M.; ANGHINONI, I.; SALET, R.L.; Alternativa à coleta de uma secção transversal, com pá de corte, na largura da entrelinha, na amostragem do solo em lavouras com adubação em linha no sistema plantio direto. **Revista Plantio Direto**, v.3, p.22- 28, 2002.

NICOLODI, M.; ANGHINONI, I.; GIANELLO, C.; Relações entre os tipos e indicadores de acidez do solo em lavouras no sistema plantio direto na região do

planalto do rio grande do sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.1217-1226, 2008.

NOGUEIRA, M. A.; MELO, W. J. Enxofre disponível para a soja e atividade da arilsulfase em solo tratado com gesso agrícola. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.655 - 663, 2003.

NUNES, R.S.; SOUSA, D.M.G.; GOEDERT, W.J.; SOARES, J.R.R.; **Impacto dos sistemas de plantio direto e preparo convencional nas interações entre matéria orgânica e fertilidade do solo**. IX simpósio Nacional do Cerrado/II Simpósio internacional de savanas tropicais, Brasília. CD ROM, 6p. 2008.

OLIVEIRA, J.R.A. **O impacto de sistemas integrados de lavouras e pastagens na biomassa-C e na atividade biológica de um Latossolo Vermelho-Escuro de Cerrado**. (Dissertação de Mestrado) Universidade de Brasília, 2000. 115p.

OLIVEIRA, I. P.; COSTA, K. A. P.; SANTOS, K. J. G.; MOREIRA, F. P. Considerações sobre a acidez dos solos de cerrado. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**.v.1, p.01-12, 2005.

PEIXOTO, R. S.; CHAER, G. M.; FRANCO, N.; REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; ROSADO, A. S.; A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.98, p.403 – 413, 2010.

PEREIRA, J.C.; NEVES, M.C.P.; DROZDOWICZ, A. Dinâmica das populações bacterianas em solos de cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.34, p.801-811, 1999.

PEREIRA, J.C.; NEVES, M.C.P.; GAVA, C.A.T.; Efeito do cultivo da soja na dinâmica da população bacteriana, em solos de Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.1183 - 1190, 2000.

PEREIRA, A.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; KASCHUK, G.; CHUEIRE, L.M.O.; CAMPO, R.J.; TORRES, E.; Variações qualitativas e quantitativas na microbiota do solo e na fixação biológica do nitrogênio sob diferentes manejos com soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.31, p.1397–1412. 2007.

PEREZ, K.S.S.; RAMOS, M.L.G.; McMANUS, C.; Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p.567-573, 2004.

REICOSKY, D.C.; LINDSTROM, M.J.; Effect of fall tillage method on short term carbon dioxide flux from soil. **Agronomy Journal**, v.85, p.1237-1243, 1993.

REYES, I.; BERNIER, L.; ANTOUN, H.; Rock phosphate solubilization and colonization of Maize rhizosphere by wild and genetically modified strains of *Penicillium rugulosum*, **Microbial Ecology**, v.44, p.39 – 48. 2002.

RHEINHEIMER, D.S.; ANGHINONI, I.; CONTE, E.; Fósforo da biomassa microbiana em solos sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p.589-597, 2000.

ROONEY, D.C.; CLIPSON, N.J.W.; Phosphate Addition and Plant Species Alters Microbial Community Structure in Acidic Upland Grassland Soil. **Microbial Ecology**, v.57, p.4–13. 2009.

ROSADO, A. S. **Diversidade e ecologia de microrganismos do solo**. In: Reunião Brasileira de Fertilidade e Nutrição de Plantas, 23; Reunião Brasileira sobre Micorrizas, 7; Simpósio Brasileiro de Micro-biologia do Solo, 5; Reunião Brasileira de Biologia do Solo, 2. Anais. Santa Maria: UFSM, 2000. CD-ROM.

ROSCOE, R.; MERCANTE, F.M.; MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B.; SANTOS, J.C.F.; HUNGRIA, M.; Biomassa Microbiana do solo: Fração mais ativa da matéria orgânica. In: ROSCOE, R.; MERCANTE, F.M.; SALTON, J.C.; **Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionistas**. Dourados, Embrapa. p.163-198. 2006.

SÁ, J.C.M.; Manejo da fertilidade do solo no sistema plantio direto. In: SIQUEITA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIM, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G.; (Eds). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Lavras, p.267 – 319. 1999.

SÁ, J.C.M.; **Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas de manejo convencional e plantio direto**. (Tese de Doutorado), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 141p. 2001.

SÁ, J.C.M.; Adubação fosfatada no sistema plantio direto. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S.; (eds). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba, Potafós, p.201 – 222, 2004.

SAGGAR, S.; BETTANY, J.R.; STEWART, W.B. Measurement of microbial sulfur in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.13, p.493-498, 1981.

SARATHCHANDRA, S.U.; LEE, A.; PERROT, K.W.; RAJAN, S.S.S.; OLIVER, E.H.A.; Effect of phosphate fertilizer applications on microorganisms in pastoral soil. **Australian Journal of Soil Research**. v.31, p.299 – 309. 1993.

SEGUY, L.; KLUTHCOUSKI, J.; SILVA, J.G.; BLUMENSCHNEIN, F.N.; DALL'ACQUA, F.M.; **Técnicas de preparo do solo: Efeitos na fertilidade e na conservação do solo, nas ervas daninhas e na conservação de água**. Embrapa – CNPAF, 26p. 1984.

SCHAEFER, C.E.G.R.; SOUZA, C.M.; VALLEJOS M., F.J.; VIANA, J.H.M.; GALVÃO, J.C.C.; RIBEIRO, L.M.; Características da porosidade de um Argissolo Vermelho-Amarelo submetido a diferentes sistemas de preparo de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.765-769, 2001.

SILVA, I.R.; MENDONÇA, E.S.; VI – Matéria orgânica do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; (eds.) **Fertilidade do solo**. SBCS Viçosa, 275 – 374 pp. 2007.

SILVA, L.G.; **Uso e monitoramento de indicadores microbiológicos para avaliação da qualidade dos solos de cerrado sob diferentes agroecossistemas.** (Dissertação de Mestrado) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 137p. 2008.

SILVA, L.G.; MENDES, I.C.; REIS JR., F.B.; FERNANDES, M.F.; MELO, J.T.; KATO, E.; Atributos físicos, químicos e biológicos de um Latossolo de cerrado em plantio de espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.613 - 620. 2009

SILVA, M.B.; KLIEMANN, H.J.; SILVEIRA, P.M.; LANNA, A.C.; Atributos biológicos do solo sob influência da cobertura vegetal e do sistema de manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.1755-1761, 2007.

SIQUEIRA, N.S. **Influência de sistemas de preparo sobre algumas propriedades químicas e físicas do solo e sobre a cultura do milho (*Zea mays* L.).** (Tese de Doutorado), Universidade Federal de Viçosa.78p. 1995.

SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E.; (ed.) **Cerrado: correção do solo e adubação.** Planaltina, DF. Embrapa Cerrados, 416p, 2004.

SOUZA, Z.M.; PRADO, R.M.; PAIXÃO, A.C.S.; CESARIN, L.G.; Sistemas de colheita e manejo da palhada de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.271-278, 2005.

SOUSA, D.M.G.; MIRANDA, L.N.; OLIVEIRA, S.A.; V - Acidez do solo e sua correção. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; (eds.) **Fertilidade do solo.** SBCS Viçosa, 205 – 274 pp. 2007.

SOUZA, Z.M.; ALVES, M.C.; Propriedades físicas e teor de matéria orgânica em um Latossolo Vermelho de cerrado sob diferentes usos e manejos. **Acta Scientiarum: Agronomy**, v.25, p.27 - 34, 2003.

SPEIR, T.W.; ROSS, D.J.; Soil Phosphatase and Sulphatase. In: BURNS, R.G.; **Soil Enzymes**, (ed); Academic Press: New York, 197–250, 1978.

SPERA, S.T.; SANTOS, H.P.; FONTAENLI, R.S.; TOMM, G.O. Efeito de sistemas de produção de grãos envolvendo pastagens sob plantio direto nos atributos físicos do solo e sua produtividade. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.533 - 542, 2004.

TABACHNICK, B.G.; FIDELL, L.S.; **Using multivariate statistics**. 5.ed. Boston: Pearson Allyn & Bacon. 980p. 2007.

TABATABAI, M.A.; Soil enzymes. In: WEAVER, R.W.; SCOTT, A.; BOTTOMELEY, P.J. (Ed.). *Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties*. **Soil Science Society America**, v.2, p.778 – 835, 1994.

TISDALE, S.; NELSON, W.L.; BEATON, J.D.; HAVLIN, J.H.; **Soil fertility and fertilizers**. New York: Macmillan, 634p. 1993.

TORSVIK, V.; GORSOYR, J.; DAEE, F. L. High diversity in DNA soil bacteria. **Applied & Environmental Microbiology**, v.56, p.782-787, 1990.

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.

VALLEJOS M., F.J. **Influência de sistemas de preparo do solo em algumas propriedades químicas e físicas de um Podzólico Vermelho-Amarelo câmbico argiloso, e na cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.)**. (Dissertação de Mestrado), Universidade Federal de Viçosa, 70p; 1998.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.703-707, 1987.

WARDLE, D.A.; YEATES, G.W.; NICHOLSON, K.S.; BONNER, K.I.; WATSON, R.N.; Response of soil microbial biomass dynamics, activity and plant litter decomposition to agricultural intensification over a seven-year period. **Soil Biology and Biochemistry**. v.31, p.1707 – 1720, 1999.

XAVIER, F.A.S.; MAIA, S.M.F.; OLIVEIRA, T.S.; MENDONÇA, E.S.; Biomassa microbiana e matéria orgânica leve em solos sob sistemas agrícolas orgânico e convencional na Chapada da Ibiapaba – CE. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.247-258, 2006.

ZAK, J. C.; WILLIG, M. R.; MOORHEAD, D. L.; WILDMAN, H. G. Functional iversity of bacterial communities: a quantitative approach. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1101-1108, 1994.

ZELLES. L.; STEPPER, I.; ZSOLNAY, A.; The effect of liming on microbial activity in spruce (*Picea abies* L.) forests. **Biology & Fertility of Soils**, v.9, p.78–82, 1990.

**CAPÍTULO 2**  
**ESTRUTURA GENÉTICA E METABÓLICA DAS COMUNIDADES BACTERIANAS**  
**EM SOLOS DE CERRADO SOB PLANTIO DIRETO E PREPARO**  
**CONVENCIONAL E SUA RELAÇÃO COM ATRIBUTOS QUÍMICOS, FÍSICOS E**  
**BIOLÓGICOS DO SOLO**

## RESUMO

Sabe-se que as práticas agrícolas promovem diversas modificações nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, porém, pouco se sabe sobre sua influência na estrutura genética e no perfil metabólico das comunidades bacterianas. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a influência do manejo de solos de Cerrado sobre a estrutura genética e o perfil metabólico das comunidades bacterianas; estudar suas relações com os atributos químicos, físicos e biológicos desses solos sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) e; identificar indivíduos mais representativos entre isolados bacterianos e bandas dominantes em perfis de DGGE. Foram coletadas amostras de solo na profundidade de 0-10 cm em um Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com milho e soja, sob PD e PC, e em um Latossolo Vermelho cultivado com milho e soja, sob PD e PC e adubado com duas fontes de fósforo, superfosfato triplo e fosfato natural reativo. Áreas de cerrado nativo, adjacentes aos experimentos, foram utilizadas como referência das condições originais dos solos. Utilizou-se a técnica de DGGE, para avaliar a estrutura genética, e microplacas EcoPlate™, para determinar o perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas do solo. Para a identificação de isolados bacterianos e bandas de DGGE mais representativas, foi utilizada a técnica de clonagem e sequenciamento de parte do 16S rDNA. Foi utilizado o teste estatístico de Mantel para se avaliar a relação de similaridade entre a estrutura genética, o perfil metabólico e os atributos químicos, físicos e biológicos dos solos. Solos cultivados apresentaram estrutura genética e perfil metabólico das comunidades bacterianas diferentes daqueles encontrados em solos sob vegetação nativa de Cerrado. As metodologias dependentes e independentes de cultivo utilizadas acessaram porções diferentes da comunidade bacteriana. Indivíduos pertencentes ao gênero *Burkholderia* foram as bactérias mais abundantes nos solos estudados sob mata nativa, sob as áreas cultivadas, houve o predomínio de indivíduos pertencentes aos gêneros *Arthrobacter*, *Bacillus* e *Burkholderia*. Uma grande quantidade de bactérias desconhecidas foram observadas com a utilização do DGGE, em todas as áreas estudadas. O teste de Mantel revelou que há correlação significativa entre a estrutura genética, o perfil metabólico e os atributos químicos, físicos e biológicos do solo.

**Termos de indexação:** Manejo do solo, estrutura de comunidades bacterianas, DGGE, EcoPlate™.

## ABSTRACT

It is known that agricultural practices promote several changes in the chemical, physical and biological soil properties, but little is known about its influence on the genetic structure and metabolic profile of bacterial communities. The objectives of this work were to evaluate the influence of the management on the genetic structure and metabolic profile of bacterial communities, studying their relationship with the chemical, physical and biological parameters of Cerrado soils under no-tillage (NT) and conventional tillage (CT) and to identify the most representative individuals using bacterial isolates and dominant bands in DGGE profiles. Samples were collected at depth a of 0-10 cm in a clayey Typic Haplustox planted with corn and soybean under CT and NT systems and in an Oxisoil planted with corn and soybean under NT and CT fertilized with two phosphate sources, triple superphosphate and reactive phosphate rock. Areas of native vegetation, adjacent to the experiments, were used as reference to the original conditions of the soil. The DGGE was used to assess the genetic structure and microplates Biolog EcoPlate™ to determine the metabolic diversity and profile of soil bacterial communities. For the identification of bacterial isolates and most representative DGGE bands, the technique of cloning and sequencing of part of 16S rDNA was used. The Mantel statistical test assessed the relationship of similarity between the genetic structure, metabolic profile and chemical, physical and biological soil parameters. Cultivated soils showed genetic structure and metabolic profile of bacterial communities different from those found in soils under native Cerrado vegetation. The methods dependent and independent of cultivation accessed different parts of the bacterial community. Individuals belonging to the genus *Burkholderia* were more abundant in soils under natural vegetation and on cultivated areas there was predominance of individuals belonging to the genera *Arthrobacter*, *Bacillus* and *Burkholderia*. A large amount of unknown bacteria were observed with the use of DGGE in all observed areas. The Mantel test revealed that there were significant correlations between the genetic structure, metabolic profile and the chemical, physical and biological soil attributes.

**Index terms:** Soil management, bacterial community structure, DGGE, Biolog EcoPlate™.

## 1. INTRODUÇÃO

Embora menos evidente, a diversidade microbiana é tão importante quanto à diversidade de plantas e animais. Quanto maior a diversidade, maior a estabilidade do ecossistema e mais eficiente o uso dos recursos disponíveis (Tótola e Chaer, 2002). A diversidade microbiana estaria relacionada a um efeito “tampão” do solo contra estresses ambientais naturais ou causados pelo homem, e sua avaliação pode envolver aspectos genéticos (riqueza e ou abundância de genomas) e funcionais (variedade de funções de decomposição, transformação de nutrientes, promoção/supressão do crescimento de plantas, etc).

Ferramentas de biologia molecular e metodologias que permitem avaliar parte da diversidade funcional têm sido utilizadas para o estudo do perfil das comunidades microbianas dos solos (Kirk et al., 2004). Dentre as técnicas de biologia molecular destacam-se as análises do DNA ribossomal, que pode ser utilizada isoladamente ou combinada com outras metodologias, como a eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE). O DGGE permite identificar polimorfismo nos fragmentos de mesmo tamanho do DNA obtidos de amostras da microbiota do solo (Muyzer et al., 1993), sendo capaz de detectar indivíduos que não são encontrados quando se utilizam técnicas tradicionais de plaqueamento em meio de cultura (Wintzingerode et al., 1997). Um método associado ao estudo da diversidade funcional, principalmente de bactérias do solo, é a avaliação do perfil metabólico das comunidades com o sistema EcoPlate™ (Biolog, Inc., Hayward, CA, EUA), que mede a intensidade de utilização de diferentes fontes de carbono (Garland e Mills, 1991; Gomez et al., 2006).

Edenborn e Sexstone (2007) mostraram que a utilização de estratégias de estudos que envolvam metodologias dependentes e independentes de cultura pode acessar informações diferentes e complementares sobre as comunidades bacterianas do solo. Sendo assim, a utilização de abordagens clássicas de isolamento de bactérias em meio de cultura, associadas à obtenção de perfis moleculares e/ou clonagem e sequenciamento para posterior caracterização/identificação de indivíduos representativos dessas comunidades pode contribuir para a ampliação das bases científicas no que diz respeito ao entendimento e a preservação da diversidade no ambiente.

Utilizado no Brasil desde a década de 1970, o plantio direto tem-se destacado como estratégia conservacionista de manejo do solo, considerado por Machado e Silva (2001), como um sistema benéfico para o ambiente, devido ao aumento notável da taxa de infiltração de água no solo, à diminuição da erosão e perda de nutrientes, ao aumento no teor de matéria orgânica na camada superficial do solo e à maior estabilidade econômica das comunidades rurais. Apesar das profundas alterações sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas, pouquíssimos estudos têm avaliado os efeitos do manejo sobre as comunidades microbianas do solo e as suas relações com seus outros atributos (Peixoto et al., 2010).

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a influência do manejo de solos de Cerrado sobre a estrutura genética e o perfil metabólico das comunidades bacterianas; estudar suas relações com os atributos químicos, físicos e biológicos desses solos sob PD e PC e; identificar indivíduos mais representativos entre isolados bacterianos e bandas dominantes em perfis de DGGE, por meio de sequenciamento parcial do 16S rDNA.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

A descrição das áreas de estudo e a maneira com que as amostras foram coletadas encontram-se detalhadas no Capítulo 1.

Para as análises da estrutura e diversidade metabólica das comunidades bacterianas, as amostras permaneceram refrigeradas por, no máximo, 24 horas. Parte das amostras foi mantida em freezer a -20°C até o momento da extração do DNA para os estudos envolvendo PCR-DGGE.

### **2.1. Determinação do perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas**

O perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas foi determinado com o uso de microplacas Biolog EcoLog™ (Biolog, Inc. Hayward, USA, Figura 1).

Foram adicionados 5g de solo de cada amostra à 45mL de solução salina (NaCl 0,5%). Após agitação a 150 rpm por 30 min, foram feitas diluições seriadas (2 mL em 18mL) até  $10^{-3}$ . Foram aplicados 120 $\mu$ L desta suspensão  $10^{-3}$  em cada poço das microplacas, que, em seguida foram incubadas a 28°C. A cada 12 horas foram realizadas leituras em espectrofotômetro leitor de microplacas a 590nm, até a obtenção de uma média de desenvolvimento de cor (AWCD - “average well colour development”) de 0,8 – 1,0 unidades de absorbância para cada placa. Os valores de absorbância, obtidos com a utilização de cada fonte de carbono presente nas microplacas (Figura 2), foram utilizados para acessar informações sobre a estrutura metabólica das comunidades bacterianas, assim como, calcular os índices de diversidade de Shannon (H) e a riqueza de substratos (S) (Zak et al., 1994).

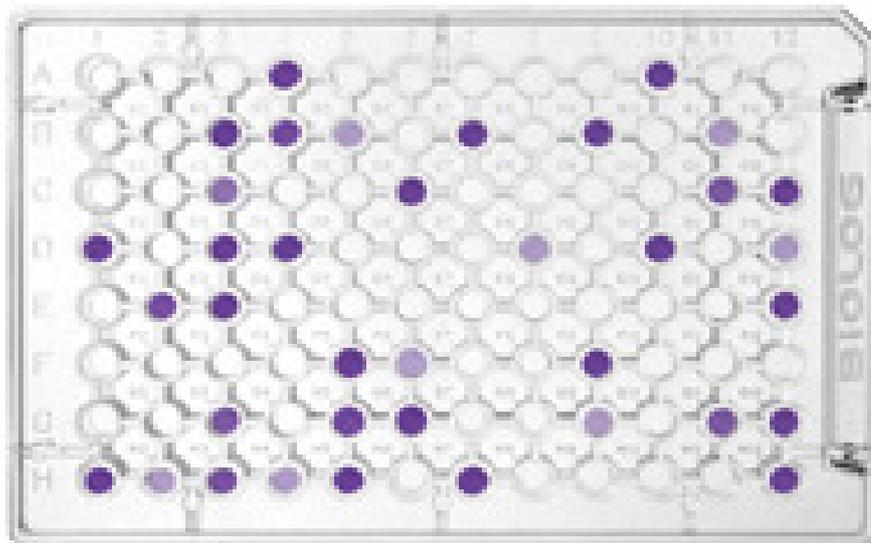


Figura 1: Foto de uma microplaca EcoPlate™. Poços com coloração púrpura são aqueles onde a microbiota do solo está consumindo a fonte de carbono, sendo a intensidade desta coloração relacionada à intensidade de consumo de tal fonte.

A1 Água	A2 β-Metil-D- Glucosídeo	A3 D-Ácido Galactônico γ-Lactona	A4 L-Arginina	A1 Água	A2 β-Metil-D- Glucosídeo	A3 D-Ácido Galactônico γ-Lactona	A4 L-Arginina	A1 Água	A2 β-Metil-D- Glucosídeo	A3 D-Ácido Galactônico γ-Lactona	A4 L-Arginina
B1 Ácido Pirúvico Ester Metílico	B2 D-Xilose	B3 D-Ácido Galacturônico	B4 L-Asparagina	B1 Ácido Pirúvico Ester Metílico	B2 D-Xilose	B3 D-Ácido Galacturônico	B4 L-Asparagina	B1 Ácido Pirúvico Ester Metílico	B2 D-Xilose	B3 D-Ácido Galacturônico	B4 L-Asparagina
C1 Tween 40	C2 i-Eritritol	C3 2-Ácido Hidróxi- benzóico	C4 L- Fenilalanina	C1 Tween 40	C2 i-Eritritol	C3 2-Ácido Hidróxi- benzóico	C4 L- Fenilalanina	C1 Tween 40	C2 i-Eritritol	C3 2-Ácido Hidróxi- benzóico	C4 L- Fenilalanina
D1 Tween 80	D2 D-Manitol	D3 4-Ácido Hidróxi- benzóico	D4 L-Serina	D1 Tween 80	D2 D-Manitol	D3 4-Ácido Hidróxi- benzóico	D4 L-Serina	D1 Tween 80	D2 D-Manitol	D3 4-Ácido Hidróxi- benzóico	D4 L-Serina
E1 α- Ciclodextrina	E2 N-Acetil-D- Glucosamina	E3 γ-Ácido Hidróxi- butírico	E4 L-Treonina	E1 α- Ciclodextrina	E2 N-Acetil-D- Glucosamina	E3 γ-Ácido Hidróxi- butírico	E4 L-Treonina	E1 α- Ciclodextrina	E2 N-Acetil-D- Glucosamina	E3 γ-Ácido Hidróxi- butírico	E4 L-Treonina
F1 Glicogênio	F2 D-Ácido Glucosamínico	F3 Ácido Itacônico	F4 Glicil-L- Ácido glutâmico	F1 Glicogênio	F2 D-Ácido Glucosamínico	F3 Ácido Itacônico	F4 Glicil-L- Ácido glutâmico	F1 Glicogênio	F2 D-Ácido Glucosamínico	F3 Ácido Itacônico	F4 Glicil-L- Ácido glutâmico
G1 D-Celobiose	G2 Glicose-1- Fosfato	G3 Ácido α- Ketobutírico	G4 Feniletilamina	G1 D-Celobiose	G2 Glicose-1- Fosfato	G3 Ácido α- Ketobutírico	G4 Feniletilamina	G1 D-Celobiose	G2 Glicose-1- Fosfato	G3 Ácido α- Ketobutírico	G4 Feniletilamina
H1 α-D-Lactose	H2 D,L-α- Glicerol Fosfato	H3 D-Ácido Málico	H4 Putrescina	H1 α-D-Lactose	H2 D,L-α- Glicerol Fosfato	H3 D-Ácido Málico	H4 Putrescina	H1 α-D-Lactose	H2 D,L-α- Glicerol Fosfato	H3 D-Ácido Málico	H4 Putrescina

Figura 2: Esquema demonstrando a localização das 31 fontes de carbono diferentes em uma microplaca EcoPlate™.

## 2.2. Extração de DNA de bactérias cultiváveis e diretamente do solo

As bactérias isoladas que pertenciam aos grupos fenotípicos mais representativos foram cultivadas em meio de cultura líquido TSA (1/10) e King's B por 18 h a 24 h. Após esse período foi utilizado o protocolo do kit Wizard Genomic DNA Extraction, da Promega, para extração do DNA dos isolados.

Para a extração de DNA da microbiota do solo foi utilizado o kit MO Bio Ultra Clean Soil DNA Isolation (BIOzymTC, Landgraaf, The Netherlands) conforme o protocolo descrito pelo fornecedor.

Após a extração, a presença e a integridade do DNA foram verificadas em gel de agarose 0,8% corado com brometo de etídio ( $C_{21}H_{20}BrN_3$ ,  $2 \mu g mL^{-1}$ ) e visualizados sob luz UV, seguindo protocolo estabelecido por Nübel et al. (1996). O tamanho do DNA foi estimado por comparação com o marcador 1Kb DNA ladder (Invitrogen).

### **2.3. Amplificação do gene 16S rDNA**

Para o DNA extraído de isolados bacterianos, a reação de amplificação foi feita em um volume total de 25  $\mu\text{L}$ , contendo 2,5  $\mu\text{L}$  de tampão 10x (100 mM Tris-HCl (pH 9.0), 15 mM  $\text{MgCl}_2$ , 500 mM KCl), 0,5  $\mu\text{L}$  de dNTP (2'-deoxynucleoside 5'-triphosphate, 10 mM), 1,0  $\mu\text{L}$  de cada um dos primers (27f e 1525r, 20pmol  $\mu\text{L}^{-1}$ ) (Lane, 1991), 0,2  $\mu\text{L}$  de Taq DNA Polimerase (GE Healthcare), 16,8  $\mu\text{L}$  de água milli Q estéril e 3,0  $\mu\text{L}$  de amostra de DNA molde (50 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ ). As condições de amplificação constaram em uma etapa inicial de desnaturação a 94 °C por 1 min, seguida por 40 ciclos de 94 °C por 1 min, 66 °C por 1 min e 72 °C por 2 min.

Para o DNA extraído do solo, cada amostra foi amplificada em um volume final de 50 $\mu\text{L}$ , contendo 5  $\mu\text{L}$  de tampão (10x), 4  $\mu\text{L}$  de dNTPs (0,25 mM), 2  $\mu\text{L}$  de cada um dos primers (U968f-GC e L1401r, 5 pmol  $\mu\text{L}^{-1}$ ) (Heuer et al., 1997), 0,5  $\mu\text{L}$  de Taq DNA polimerase (GE Healthcare), 1  $\mu\text{L}$  de DNA molde (30 ng) e 35,5  $\mu\text{L}$  de água milli Q estéril. As condições de amplificação consistiram em uma etapa inicial de desnaturação a 94 °C por 4 min; seguida de 25 ciclos de 94 °C por 1 min, 47 °C por 1,5 min e 72 °C por 1min, mais a extensão final a 72 °C por 15 min.

As reações de amplificação foram realizadas em um termociclador MyCycler – (BioRad Inc.), de acordo com Heuer et al. (1997) e Lovell et al. (2000) e os produtos de amplificação foram submetidos a eletroforese em gel de agarose 1,2%, corados com brometo de etídeo e visualizados sob luz UV. O tamanho do DNA amplificado foi comparado com o marcador de peso molecular 1Kb DNA ladder (Invitrogen).

### **2.4. Eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE)**

Foi utilizado o sistema de eletroforese vertical (BioRad DCode System - Universal Mutation Detection System, Figura 3) com placa de 20 X 20 cm, espaçador 1,0 mm, conforme instruções do fabricante. O gradiente de desnaturantes de uréia-formamida utilizado foi de 50% a 70%, em gel de poliacrilamida 6%.

Em cada “poço” foram aplicados 30 $\mu\text{L}$  de produto de PCR + 5 $\mu\text{L}$  de tampão de carregamento 1X (“Gel Loading Solution”, Sigma). A eletroforese foi realizada em tampão tris-acetato-EDTA 1X (TAE) a 60°C por 18h a 70 V. Após o término da

corrida, o gel foi corado por 60 min em SYBR Green I (Molecular Probes, Leiden, The Netherlands) e observado/fotografado sob luz UV.



Figura 3: Cuba de eletroforese vertical BioRad DCode System - Universal Mutation Detection System.

## 2.5. Clonagem e sequenciamento

Para o DNA extraído dos isolados bacterianos, o gene 16S rDNA amplificado por PCR foi clonado utilizando o kit pGEM<sup>®</sup> T-easy (Promega), conforme instruções do fabricante.

Bandas do gel de poliacrilamida que se apresentaram mais presentes em um determinado tratamento e/ou as que foram mais intensas na análise de DGGE foram recortadas. Essas bandas foram eluídas e re-amplificadas de acordo com Ferris et al. (1996), para posterior clonagem com auxílio do kit pGEM<sup>®</sup> T-easy (Promega).

O vetor foi inserido em células competentes via eletroporação (resistência de 200 Ohms, capacitância 25  $\mu$ Fd e tensão de 1,8 Volts) sendo, em seguida, incubadas para crescimento em placas de petri contendo meio de cultura Luria-Bertani (LB) + ampicilina 50 $\mu$ g ml<sup>-1</sup> + X-gal (40 $\mu$ g  $\mu$ l<sup>-1</sup>) + IPTG (0,5 M) por cerca de 12 horas a 37°C. Em seguida foi feita a seleção dos clones, que é baseada na

atividade do gene da  $\beta$ -galactosidase. Colônias brancas (recombinantes) possuem esse gene inativo e não produzem a enzima que cliva o X-gal, enquanto os clones não recombinantes são capazes de transcrever e traduzir a enzima, o que torna as colônias azuis.

O DNA plasmidial das colônias, selecionadas após a clonagem, foi extraído e submetido à sequenciamento em sequenciador Automático ABI Prism 3700 DNA Analyser (Applied Biosystems Inc.). As sequências geradas foram processadas, com remoção de sequências provenientes de vetor e bases de baixa qualidade e identificadas através de busca de homologia no GenBank, utilizando o programa Blast (Altschul et al., 1990).

## **2.6. Tratamento dos dados e análises estatísticas**

### **2.6.1. Perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas**

Para as avaliações estatísticas dos resultados obtidos com as análises dos índices de diversidade de Shannon e riqueza de substratos (EcoLog<sup>TM</sup>), foi utilizado o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + B_j + S_i + \text{Erro}_{ij} + F_k + (SD)_{ik} + \text{Erro}_{ijk},$$

onde:  $\mu$  = média geral dos dados; B = bloco/repetição ( $j = 1,2,3$ ); S = Sistema de manejo ( $i = 1,2$ ); F = Fonte de fósforo/Cultura ( $k = 1,2$ ); Erro = erro experimental.

A análise de variância foi feita considerando o modelo misto de máxima verossimilhança restrita via PROC MIXED do SAS 9.1 e quando esta apontou significância o teste de hipótese de Student (t) ( $p < 0,05$ ) foi utilizado para distinção das médias. Como o delineamento experimental não inclui as áreas de referência (cerrado nativo), estas não foram comparadas com as parcelas experimentais por meio de contrastes. A ausência de sobreposição entre os valores de desvio padrão da referência e os resultados dos tratamentos foi utilizado como uma evidência da diferenças entre estas áreas.

Os valores de absorvância, obtidos com a utilização de cada fonte de carbono presente nas microplacas foram utilizados para criação de um gráfico com a

utilização da análise de NMS (“Non-metric Multidimensional Scalling”) e o método multivariado de comparação entre médias MRPP (“Multi-Response Permutation Procedures”, programa PC-ORD 5.0, MjM Software, Oregon- USA).

### **2.6.2. Estrutura das comunidades bacterianas**

Os perfis de bandas gerados pelo DGGE foram analisados pelo programa GelCompar II (Applied Maths, Versão 6.0) e para a análise de agrupamento foi usado o algoritmo UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic mean) e o coeficiente de Jaccard.

### **2.6.3. Relação entre estrutura genética, estrutura metabólica e os atributos químicos, físicos e biológicos**

Para se avaliar a relação de similaridade entre a estrutura genética, o perfil metabólico e os atributos químicos, físicos e biológicos, foi utilizado o teste de Mantel (Douglas e Endler 1982). Este teste avalia a hipótese nula de que não há correlação entre duas matrizes, e foi utilizado para avaliar as associações entre as matrizes geradas a partir dos perfis de DGGE, das análises em microplacas Ecolog<sup>TM</sup> e das propriedades químicas, físicas e biológicas avaliadas no capítulo 1. Todos os testes de Mantel foram executados utilizando o método de aproximação assintótica e a distância de Sørensen, e foram realizadas utilizando o pacote PC-ORD 5.0 (MjM Software, Oregon-USA).

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1. Perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas**

Na área sob Latossolo Vermelho Amarelo, os resultados obtidos a partir de microplacas Biolog EcoPlate<sup>TM</sup> (Figuras 4 e 5) demonstraram que o perfis metabólicos das comunidades bacterianas do solo sob cerrado nativo, nos anos de 2008 e 2009, foram diferentes dos perfis metabólicos das comunidades de microrganismos encontrados nos solos sob áreas cultivadas. Os carboidratos  $\beta$ -

metil-D-glicosídeo e glicose-1-fosfato, assim como, os ácidos carboxílicos ácido hidroxibutírico e ácido itacônico, são exemplos de fontes de C que foram utilizadas com muito maior intensidade pela comunidade microbiana associada às áreas cultivadas (dados não apresentados) e, portanto, têm importante participação na distinção de seus perfis metabólicos em relação às comunidades das áreas nativas.

Em 2008, as áreas sob milho, PC ou PD, não apresentaram diferenças significativas entre si e nem entre a área cultivada com soja sob PD, com relação a utilização de diferentes fontes de carbono presentes no sistema Biolog EcoPlate™. No entanto, os diferentes manejos do solo foram capazes de influenciar o perfil metabólico das comunidades sob a cultura da soja, que se diferenciaram entre o PC e o PD. No ano seguinte (2009) não houve diferenças significativas entre o perfil metabólico das comunidades bacterianas do solo cultivado com soja, sob PD ou PC, sendo estas diferentes das áreas cultivadas com milho, independente do manejo utilizado. Entretanto, os diferentes manejos do solo foram capazes de influenciar o perfil metabólico das comunidades sob a cultura do milho, que se diferenciaram entre o PC e o PD. Vale ressaltar que as áreas que foram semeadas com milho no ano de 2008 foram as mesmas que receberam a cultura da soja em 2009 e ambas não apresentaram diferenças significativas entre os perfis metabólicos das comunidades bacterianas quanto ao manejo utilizado.

O fato da comunidade microbiana do solo sob área de cerrado nativo apresentar perfil metabólico diferente das comunidades de microrganismos do solo sob áreas de cultivo era esperado. Outros autores, como Ribeiro et al. (2006) e Schlemmer (2007), utilizando a mesma metodologia, também observaram que as alterações impostas ao ecossistema, quando se sai de uma condição natural para uma área agrícola, afetaram a estrutura metabólica das comunidades bacterianas. Vários estudos têm demonstrado que diferentes genótipos de planta influenciam a comunidade microbiana presente na rizosfera em razão da diferença na sinalização emitida pelas raízes como exsudatos (Barea et al., 2005; Marschner et al., 2006). Assim, ao se passar da condição de cerrado nativo para um cenário de agricultura, torna-se evidente a alteração no perfil metabólico das comunidades bacterianas de tal ambiente.

No que se diz respeito ao manejo do solo, Chaer et al. (2009), estudando os efeitos da degradação do solo na composição e perfil metabólico das comunidades microbianas, observaram que quanto maior for a perturbação do solo (quantidade de

vezes em que o solo foi preparado com arado de discos e grade) maior é a alteração no perfil metabólico das comunidades microbianas. Lupwayi et al. (1998) mostraram que as comunidades microbianas, em solo cultivado com trigo, apresentavam perfil metabólico diferente quando eram cultivadas sob PD ou PC. Gomez et al. (2004) também detectaram diferenças no perfil metabólico de comunidades microbianas do solo em resposta a um gradiente de intensificação do uso da terra. Os resultados destes trabalhos corroboram, em parte, as diferenças encontradas entre os perfis metabólicos das comunidades bacterianas dos solos estudados, que, em 2008, apresentaram diferenças na cultura da soja cultivada sob PD daquela cultivada sob PC, com o mesmo acontecendo para a cultura do milho no experimento conduzido em 2009.

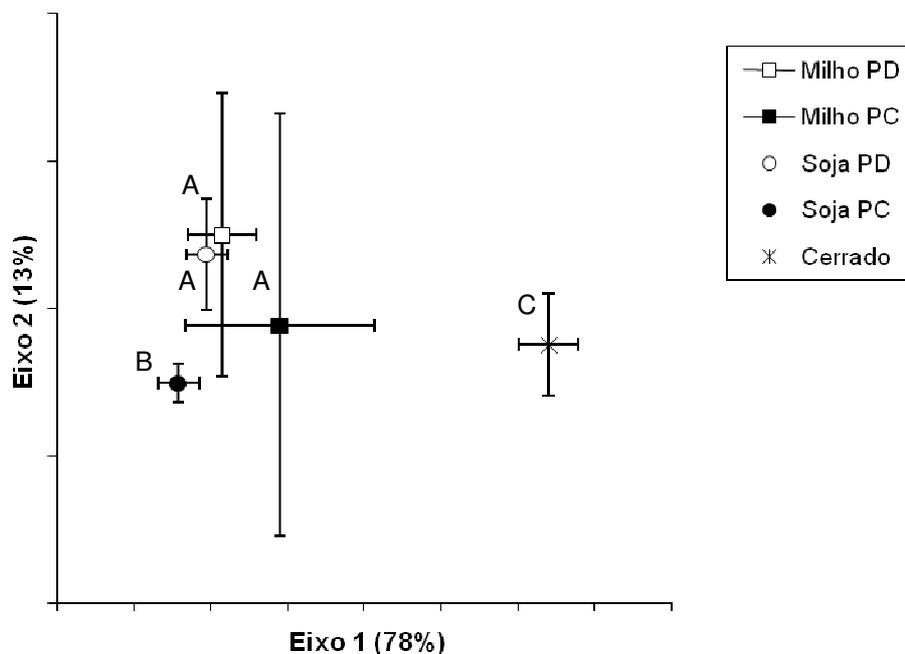


Figura 4: Estrutura funcional das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com milho e soja (ano 2008) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), determinada pelo perfil metabólico em microplacas Biolog EcoPlate™ (Análise de NMS - “Non-metric Multidimensional Scalling”). Símbolos com as mesmas letras não diferem entre si de acordo com o método multivariado de comparação entre médias (MRPP – “Multi-Response Permutation Procedures”) a 5% de significância. Os valores entre parênteses após os títulos dos eixos referem-se à percentagem da variabilidade original dos dados representada em cada eixo.

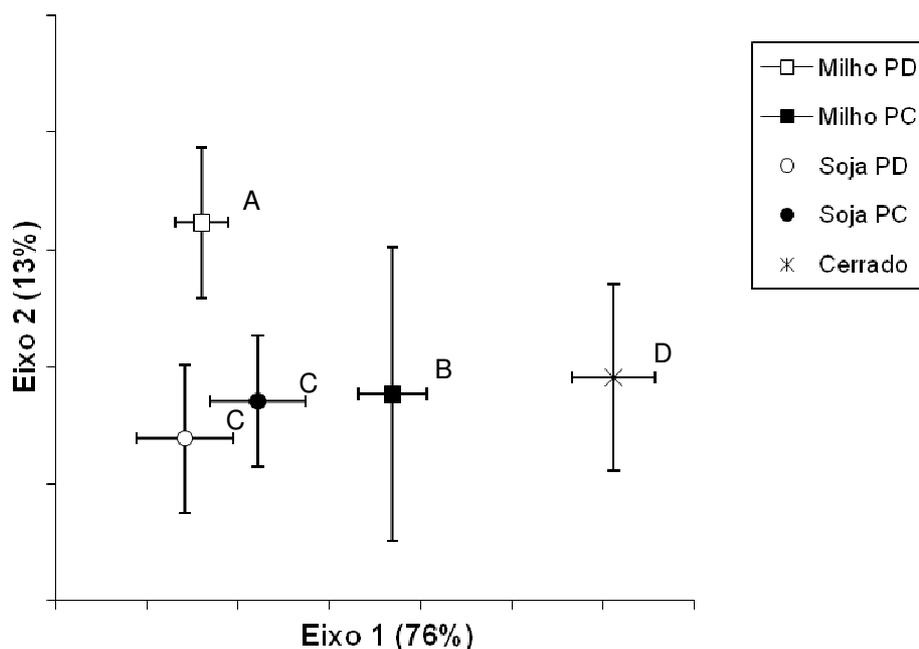


Figura 5: Estrutura funcional das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com milho e soja (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), determinada pelo perfil metabólico em microplacas Biolog EcoPlate™ (Análise de NMS - “Non-metric Multidimensional Scalling”). Símbolos com as mesmas letras não diferem entre si de acordo com o método multivariado de comparação entre médias (MRPP – “Multi-Response Permutation Procedures”) a 5% de significância. Os valores entre parênteses após os títulos dos eixos referem-se à percentagem da variabilidade original dos dados representada em cada eixo.

Ainda com base nos resultados obtidos com a utilização das microplacas Biolog EcoPlate™, a comunidade microbiana do solo sob cerrado nativo apresentou menor índice de diversidade de Shannon (H) e menor riqueza de substratos (S) em comparação com as comunidades bacterianas dos solos das áreas cultivadas. De maneira geral, não foram observadas diferenças significativas entre as áreas sob soja ou milho, PD ou PC (Tabelas 1 e 2).

Gomez et al. (2000), utilizando metodologia semelhante, analisaram áreas sob vegetação nativa e áreas sob cultivo há 16, 26 e 40 anos, constatando vasta diversidade nas áreas sob vegetação nativa e demonstrando alto potencial

metabólico e grande diversidade funcional das comunidades de microrganismos do solo. O menor valor quanto à diversidade metabólica foi encontrado na área sob rotação de culturas há 40 anos, na profundidade de 0-7,5 cm. Esses resultados vão de encontro aos obtidos nesse trabalho, onde a comunidade microbiana do solo da área sob cerrado nativo apresentou menor riqueza de substratos (S - referente ao número de diferentes substratos que podem ser utilizados pela comunidade microbiana) e índice de diversidade de Shannon (H – compreende tanto a riqueza de substratos como a intensidade com que os substratos são utilizados pela microbiota do solo) quando comparada às áreas cultivadas. Entretanto, variações na diversidade microbiana podem ser relacionadas não apenas a diversidade vegetal associada a cada área, mas também as características químicas (pH, teores de nutrientes) e físicas (porosidade, estabilidade de agregados, estrutura) de cada solo (Grayston et al., 2004). Schlemmer (2007) também observou menor diversidade metabólica da comunidade microbiana de solo sob cerrado nativo quando comparado à áreas sob pastagem e menor riqueza de substratos em relação a áreas sob pastagem e lavoura.

Fierer e Jackson (2006) mostraram que a areia de um deserto pode apresentar uma diversidade bacteriana maior que aquela encontrada em solos da floresta amazônica. Esses autores concluíram que a diversidade e riqueza das comunidades bacterianas do solo diferiram de acordo com o tipo de ecossistema e essas diferenças foram, principalmente, explicadas pelo pH. Não foi observada claramente nenhuma relação entre a diversidade de bactérias do solo e a diversidade de plantas nos locais amostrados. Os solos de ecossistemas semi-áridos do continente americano (pH > 6.0) apresentaram maior diversidade bacteriana que solos da floresta amazônica peruana (pH < 5.0). A forte correlação entre o pH do solo e a comunidade microbiana pode ser resultado da influência do pH em vários outros atributos do solo (Fierer e Jackson, 2006). Entretanto, também se pode esperar que o pH do solo tenha um efeito direto sobre as comunidades microbianas, uma vez que o pH intracelular da maioria dos microrganismos é, geralmente, próximo do neutro (Madigan et al., 1997). Sendo assim, é importante destacar que o solo do trabalho citado anteriormente, aquele de área sob vegetação nativa avaliado por Gomez et al. (2000), apresentava média de pH igual a 6.2, enquanto o solo sob cerrado nativo examinado no presente trabalho tem pH 5.0 e essa variação poderia explicar o comportamento dos índices de diversidade entre as

áreas nativas e as áreas cultivadas avaliadas. Lupwayi et al. (1998), avaliando os efeitos do manejo do solo e da rotação de culturas sobre a estrutura das comunidades microbianas do solo, observaram que áreas sob plantio direto apresentaram maiores índices de Shannon e riqueza de substratos que aqueles sob preparo convencional. Resultado similar foi encontrado por Chaer et al. (2009), que observaram diminuição em S e H à medida que as alterações do solo aumentaram. Tal comportamento não foi observado nesse trabalho, onde a utilização de distintos sistemas de manejo não resultou em diferenças claras relacionadas aos índices de diversidade avaliados.

Tabela 1: Índice de diversidade de Shannon (H) e riqueza de substratos (S), na profundidade 0 a 10 cm, com base na utilização de fontes de C presentes nas microplacas Biolog EcoPlate™ pela comunidade bacteriana do solo no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), nos anos de 2008 e 2009..

Tratamentos	Ano 2008		Tratamentos	Ano 2009	
	H	S		H	S
<b>Milho PD</b>	3,23	27,25	<b>Soja PD</b>	3,35	25,00
<b>Milho PC</b>	3,20	24,33	<b>Soja PC</b>	3,38	26,33
<b>Soja PD</b>	3,22	26,00	<b>Milho PD</b>	3,70	27,00
<b>Soja PC</b>	3,25	24,75	<b>Milho PC</b>	3,28	26,00
<b>Média de sistemas</b>					
<b>PD</b>	3,22	26,62		3,53	26,00
<b>PC</b>	3,22	24,54		3,33	26,16
<b>Média de culturas</b>					
<b>Milho</b>	3,21	25,79		3,49	26,50
<b>Soja</b>	3,23	25,37		3,36	25,66
<b>Cerrado</b>	2,98 ± 0,08	22,50 ± 1,29		2,96 ± 0,09	23,00 ± 1,00

Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 2: Valores de F e respectivos níveis de significância, referentes ao índice de diversidade de Shannon e riqueza de substratos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) nos anos de 2008 e 2009.

Fonte de Variação	G.L	Ano 2008		Ano 2009	
		Shannon	Riqueza	Shannon	Riqueza
Sistemas	1	0,00 ns	4,91 ns	4,58 ns	0,03 ns
Cultura	1	0,18 ns	2,23 ns	2,15 ns	0,69 ns
Sist X Cultura	1	0,73 ns	0,14 ns	6,62 ns	1,36 ns

ns= não significativo .

No experimento sob Latossolo Vermelho (Figuras 6 e 7) o cerrado foi retirado das análises, pois, com sua presença, os demais tratamentos ficaram 100% agrupados, divergindo apenas da área natural na análise de NMS (dados não apresentados). Isto ocorreu dada a grande discrepância entre as áreas cultivadas e o cerrado nativo, corroborando aquilo que foi encontrado e discutido na área de Latossolo Vermelho Amarelo.

Tanto em 2009 quanto em 2010, os perfis metabólicos das comunidades bacterianas dos solos adubados com ST, sob PC ou PD, não apresentaram diferenças significativas entre si. Em 2009, porém, observa-se diferença significativa entre os perfis metabólicos gerados pelas áreas adubadas com ST daqueles que receberam FNR (Figura 6), sendo que estes também se diferenciam em resposta ao manejo do solo, ou seja, o perfil encontrado na área sob PC FNR foi diferente do perfil encontrado na área sob PD FNR. Já em 2010 (Figura 7), os perfis metabólicos das comunidades bacterianas dos solos adubados com FNR, sob PC ou PD, não apresentaram a mesma diferença encontrada em 2009, além disso, tais perfis não diferiram significativamente daquele gerado pelo solo adubado com ST sob PD. O manejo do solo não diferenciou os perfis gerados pelas áreas que receberam ST, porém, o tratamento que recebeu ST sob PC apresentou um perfil de consumo das fontes de C do sistema Biolog EcoPlate™ diferente daquele observado pelos solos adubados com FNR.

O P é essencial para o crescimento vegetal e microbiano, pode ser classificado em mineral ou orgânico e apresenta distribuição de formas dependentes de fatores como o tipo de solo, pH, vegetação, atividade microbiana, e tipo de fertilizantes (Daly et al., 2001). Segundo Molla e Chowdhury (1984), é provável que

as funções dos microrganismos na ciclagem do P em solos não adubados sejam diferentes daqueles que receberam adubo e, de acordo com Rooney e Clipson (2009), isto pode ser refletido com diferenças na composição das comunidades microbianas. Além disso, a resposta das plantas às adições de fósforo no solo também podem causar importantes alterações nas comunidades de microrganismos.

Rooney e Clipson (2009) encontraram diferenças entre a composição das comunidades microbianas de pastagens adubadas com fósforo e o controle (sem adubação), implicando que o fosfato pode selecionar populações microbianas específicas no solo. De acordo com os resultados de nosso trabalho, pode-se supor que não apenas a aplicação de fósforo, mas também o tipo do fosfato adicionado ao solo influenciaria essas tais populações. Oliveira et al. (2009), avaliando a diversidade funcional das bactérias na rizosfera de genótipos de milho contrastantes na eficiência de uso de fósforo, também encontraram diferenças significativas entre o tipo de manejo (PC e PD), o que reforça o resultado encontrado na figura 6, onde as áreas adubadas com FNR foram diferenciadas pelo manejo. Estes autores também encontraram evidências de que o teor de P no solo pode ter influenciado a atividade metabólica das bactérias nas áreas estudadas.

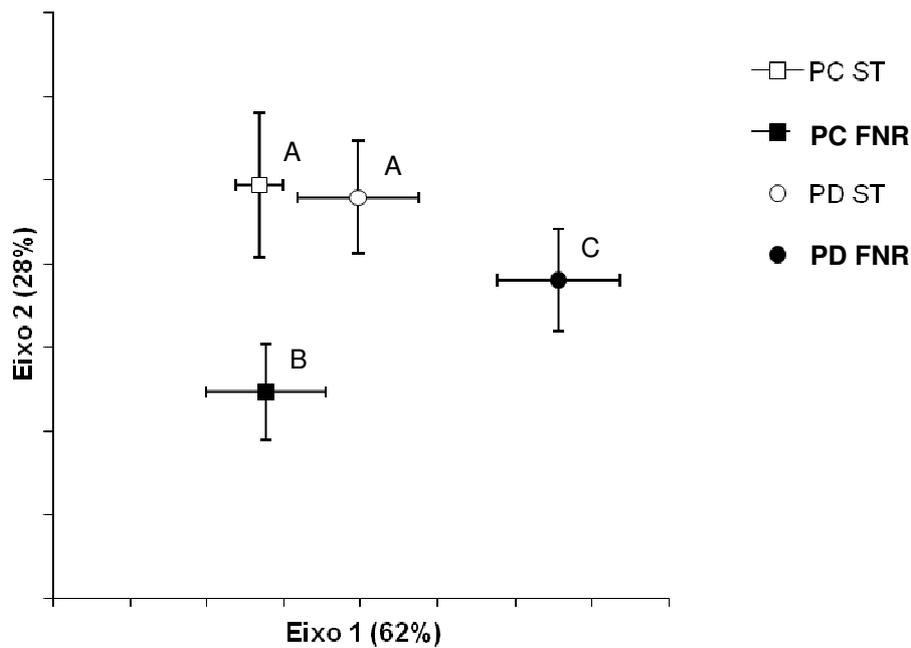


Figura 6: Estrutura funcional das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho cultivado com milho (ano 2009) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubado com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST), determinada pelo perfil metabólico em microplacas Biolog EcoPlate™ (Análise de NMS - “Non-metric Multidimensional Scalling”). Símbolos com as mesmas letras não diferem entre si de acordo com o método multivariado de comparação entre médias (MRPP – “Multi-Response Permutation Procedures”) a 5% de significância. Os valores entre parênteses após os títulos dos eixos referem-se à percentagem da variabilidade original dos dados representada em cada eixo.

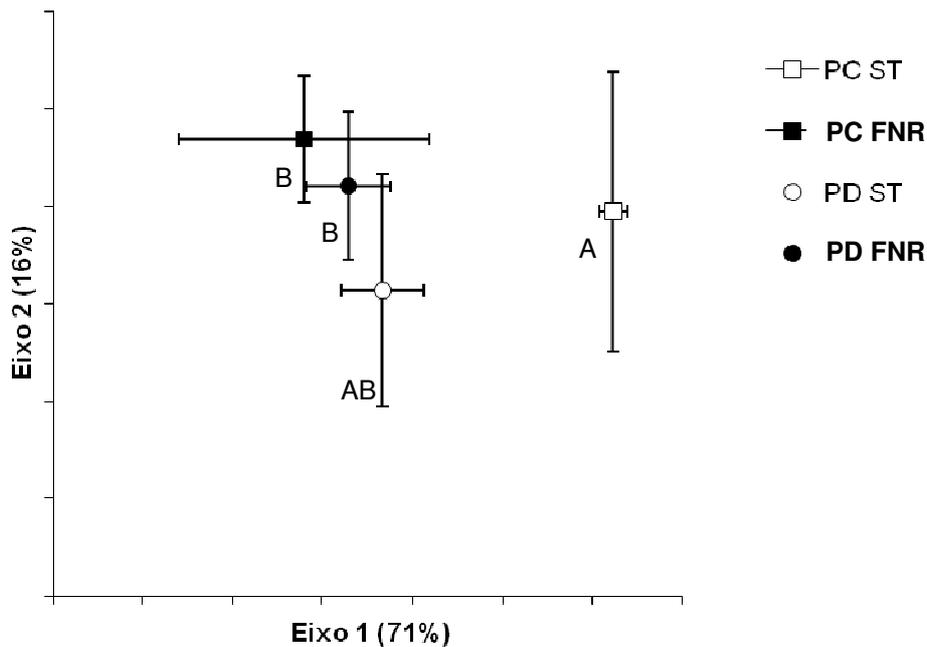


Figura 7: Estrutura funcional das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho cultivado com soja (ano 2010) sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubado com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST), determinada pelo perfil metabólico em microplacas Biolog EcoPlate™ (Análise de NMS - “Non-metric Multidimensional Scalling”). Símbolos com as mesmas letras não diferem entre si de acordo com o método multivariado de comparação entre médias (MRPP – “Multi-Response Permutation Procedures”) a 5% de significância. Os valores entre parênteses após os títulos dos eixos referem-se à percentagem da variabilidade original dos dados representada em cada eixo.

De acordo com o exposto nas tabelas 3 e 4, também obtida a partir das microplacas Biolog EcoPlate™, observa-se que, neste experimento, as diferenças entre o cerrado nativo e as áreas cultivadas foi menor do que aquelas observadas no experimento anterior, assim, é lógico assumir que, além do pH, como foi discutido para os resultados obtidos no experimento em Latossolo Vermelho Amarelo, outros fatores edáficos contribuíram para que neste experimento, sob Latossolo Vermelho, a área nativa apresentasse índice de diversidade de Shannon e riqueza de substratos mais próximos às áreas cultivadas, de acordo com a metodologia adotada.

Poucas diferenças foram observadas em H e S das comunidades bacterianas dos solos, sendo que apenas em 2009 a área manejada com PC e adubada com FNR apresentou H inferior ao encontrado nos tratamentos PC ST e PD FNR, não diferindo estatisticamente da área adubada com ST sob PD. Lupwayi et al. (2010), estudando os efeitos da adubação nitrogenada com uréia de liberação controlada, sob plantio direto e preparo convencional, sobre as comunidades microbianas do solo, encontraram diferenças entre o índice de diversidade de Shannon em apenas alguns tratamentos, sendo que, na maioria das vezes, não foram observadas grandes alterações.

O perfil metabólico deve ser considerado um indicador relativo de alterações nas comunidades microbianas dos solos (Gomez et al., 2004) e seus resultados devem ser interpretados com cautela, considerando que as diferentes fontes de C representadas entre os 31 substratos das microplacas Biolog EcoPlate™ não abrangem plenamente a diversidade de compostos nutricionais dos ambientes naturais (Konopka et al., 1998). Ainda, segundo Ros et al. (2008), a utilização de um método dependente de cultura como esse para avaliar a diversidade bacteriana tem limitações, pois deixa de fora as bactérias que não podem ser cultivadas e que, provavelmente, predominam nos solos. Apesar de apresentar limitações, as microplacas Biolog™ têm sido usadas com sucesso para monitorar as mudanças nas comunidades bacterianas no solo e em outros ambientes naturais (Classen et al., 2003; Gomez et al., 2004; Ros et al., 2008) e diante dos resultados apresentados e dos trabalhos aqui citados, torna-se clara a influência das práticas agrícolas sobre a microbiota do solo.

Tabela 3: Índice de diversidade de Shannon (H) e riqueza de substratos (S), na profundidade 0 a 10 cm, com base na utilização de fontes de C presentes nas microplacas Biolog EcoPlate™ pela comunidade bacteriana do solo no experimento sob Latossolo Vermelho, cultivado com milho (2009) e soja (2010), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

Tratamentos	Ano			
	2009		2010	
	H	S	H	S
<b>PC ST</b>	3,22 a	25,67	3,09	23,67
<b>PC FNR</b>	3,11 b	25,67	3,01	20,67
<b>PD ST</b>	3,19 ab	25,33	3,07	22,33
<b>PD FNR</b>	3,28 a	25,67	3,07	23,33
<b>Média de Sistemas</b>				
<b>PD</b>	3,23	25,50	3,07	23,83
<b>PC</b>	3,16	25,67	3,05	22,17
<b>Média de fontes</b>				
<b>FNR</b>	3,19	25,67	3,04	22,00
<b>ST</b>	3,20	25,50	3,08	23,00
<b>Cerrado</b>	3,20 ± 0,01	23,67 ± 0,58	3,08 ± 0,06	25,00 ± 2,65

Valores seguidos por mesmas letras, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ). Valores referentes ao cerrado nativo são acompanhados de  $\pm$  o desvio padrão.

Tabela 4: Valores de F e respectivos níveis de significância referentes ao índice de diversidade de Shannon e riqueza de substratos determinados na profundidade 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho cultivado com milho (2009) e soja (2010), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubados com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST).

Fonte de Variação	G.L	Ano 2009 (Milho)		Ano 2010 (Soja)	
		Shannon	Riqueza	Shannon	Riqueza
Sistemas	1	5,87 ns	0,25 ns	0,32 ns	0,37 ns
Fonte de P	1	0,11 ns	0,25 ns	1,51 ns	0,84 ns
Sist X Fonte de P	1	10,20 *	0,25 ns	1,51 ns	3,35 ns

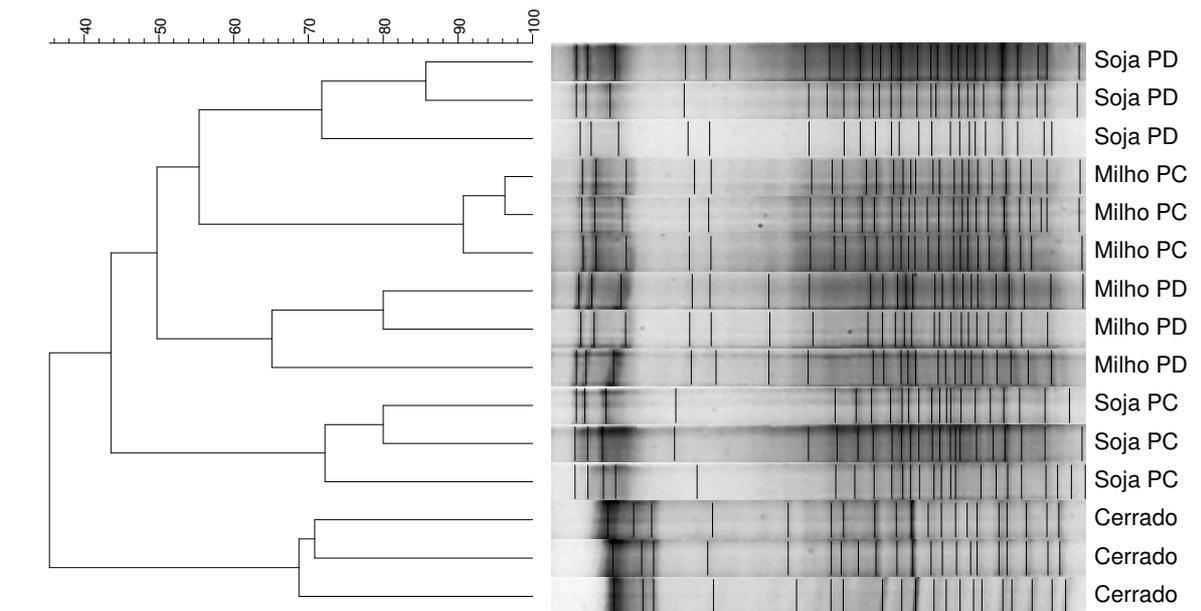
ns= não significativo \* significativo a 5%.

### 3.2. Estrutura genética das comunidades bacterianas

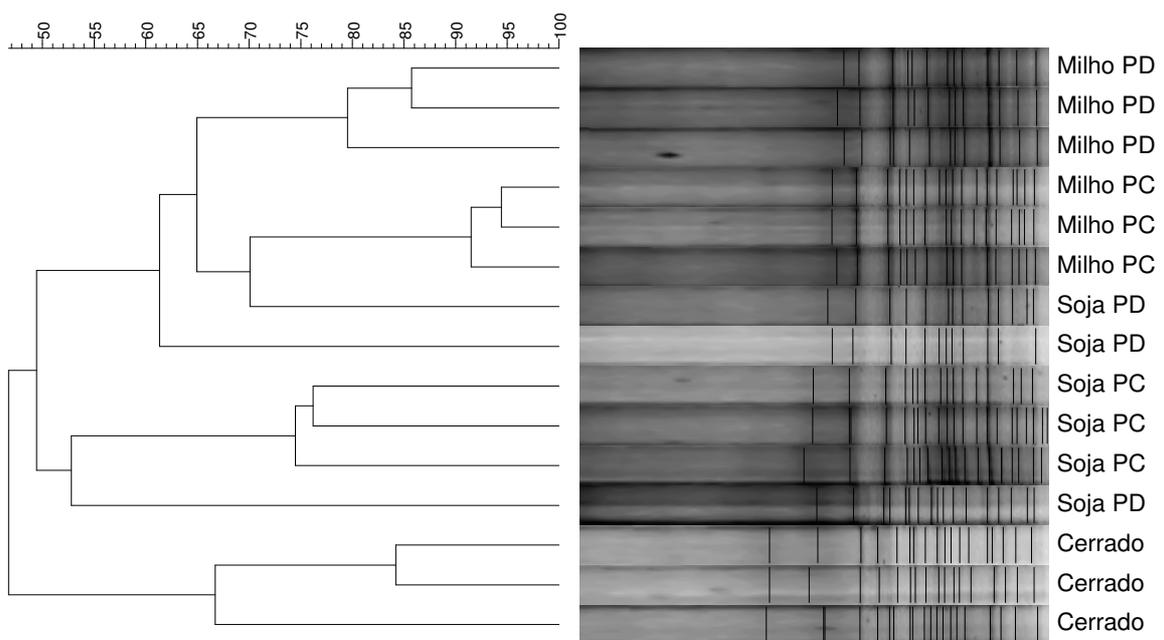
Nos dendrogramas construídos a partir dos dados obtidos com o DGGE (Figura 8), foi observado que as estruturas das comunidades bacterianas de solos sob áreas de Cerrado nativo apresentaram similaridade de apenas 35% e 45% com as áreas cultivadas, em 2008 e 2009 respectivamente. Nas coletas realizadas em dois anos consecutivos, foram formados grupos distintos entre as áreas sob plantio direto e o preparo convencional, na cultura do milho, com 49% (2008) e 65% (2009) e na cultura da soja com 44% (2008) e, no máximo, 53% (2009) de similaridade.

Diferenças entre as comunidades bacterianas de solo sob Cerrado nativo e sob cultivo também foram relatadas por outros autores em solos de Cerrado em Santo Antônio de Goiás – GO (Peixoto et al., 2006), Cristalina – GO (Bresolin et al., 2010) e Planaltina – DF (Peixoto et al., 2010). Segundo Garbeva et al. (2004), isto acontece, pois a estrutura das comunidades microbianas é afetada pela estrutura e composição da vegetação de cobertura, devido à liberação de formas específicas de carbono que podem representar importantes fontes de energia. Além disso, de acordo com Fierer et al. (2009), as comunidades microbianas do solo estão intimamente relacionadas com o pH do solo e a relação C/N, fatores que são totalmente alterados quando se corrige o solo com o acréscimo de calcário e fertilizantes.

O manejo do solo também exerceu influência sob a estrutura das comunidades bacterianas. Peixoto et al. (2006) avaliaram a influência do PC e PD sobre a estrutura das comunidades bacterianas em um solo de Cerrado, e encontraram diferenças entre os dois sistemas. Em outro trabalho, nessa mesma linha, Pereira et al. (2007) encontraram diferenças ainda maiores, tendo observado indícios de que, após 14 anos, os resíduos das plantas em rotação afetaram a diversidade da comunidade bacteriana. Segundo Van Elsas et al. (2002), isso ocorre, pois o manejo do solo tem grande influência sobre as comunidades bacterianas do solo, em seu trabalho foi observado que o nível de agregação do solo mostrou maior efeito sobre as comunidades bacterianas do que fatores como pH e o tipo de entrada de compostos orgânicos.



**A**



**B**

Figura 8: Dendrograma de similaridade da estrutura das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho-Amarelo sob Cerrado nativo e cultivado com milho e soja, safras 2008 (A) e 2009 (B), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), gerado pelo algoritmo UPGMA e matriz de similaridade de Jaccard a partir dos dados obtidos da análise de DGGE.

No experimento com diferentes sistemas de manejo e fontes de fósforo, sob Latossolo Vermelho, se observou, na amostragem de 2009 (Figura 9 A), onde milho era a cultura principal, a formação de dois grupos com 44% de similaridade, um contendo o cerrado nativo e a área adubada com FNR sob PD, e outro grupo contendo as demais áreas. Nesse segundo grupo, foram formados subgrupos semelhantes em 57%, um deles contendo as áreas adubadas com ST e outro com a área adubada com FNR sob PC. O manejo separou os tratamentos adubados com ST, sendo o PD e o PC similares em 69%.

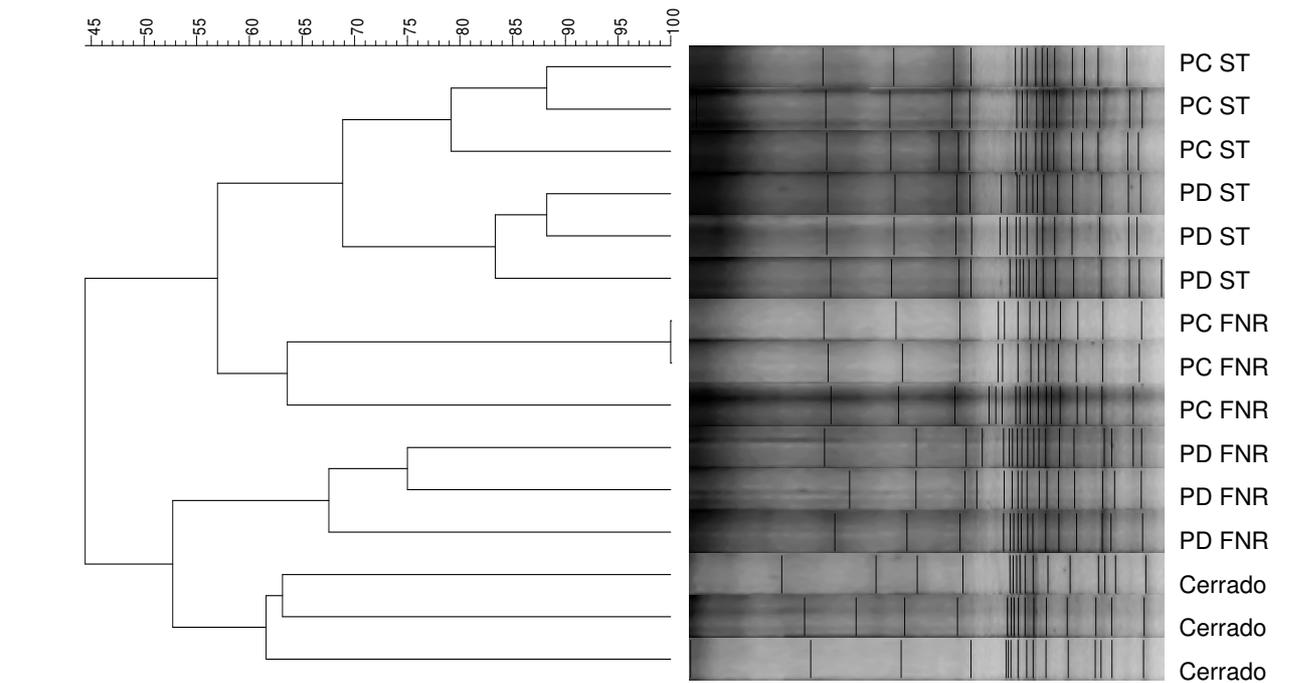
No ano seguinte (Figura 9 B), sob a cultura da soja, também foram formados dois grupos, que apresentaram 37% de similaridade entre si, novamente o Cerrado nativo e a área adubada com FNR sob PD ficaram em um mesmo grupo, dessa vez acompanhados da área adubada com FNR sob PC. No entanto, dentro desse grupo foram formados claramente três sub-grupos, onde a comunidade bacteriana da área sob PC apresentou apenas 41% e a sob PD 52% de similaridade com aquela sob Cerrado nativo. O outro grupo foi composto apenas pelas áreas que receberam ST. Nos tratamentos adubados com FNR, as comunidades sob PD e PC tiveram 41% de similaridade entre si e nas áreas que receberam ST a similaridade entre comunidades sob PD e PC foi de 47%.

Estes resultados corroboram os obtidos na área sob Latossolo Vermelho Amarelo já discutidos acima, onde o manejo do solo influenciou o perfil das comunidades bacterianas do solo. No entanto, deve-se destacar que a influência da fonte de P foi ainda mais preponderante para a separação dos grupos que o sistema de plantio. Além disso, aparentemente, o uso do FNR aliado com o PD interfere menos na estrutura dessas comunidades, mantendo-a mais próxima das características originais desse solo, se levarmos em conta sua maior proximidade com o cerrado nativo. No trabalho de Peixoto et al. (2006) os resultados também sugerem que o solo sob PD apresenta uma estrutura da comunidade bacteriana mais similar aquela presente sob vegetação nativa. Esses autores acreditam que a melhoria estrutural do solo em sistemas de PD cria as condições ambientais necessárias para o restabelecimento de genótipos microbianos nativos reprimidos pela degradação do solo a partir de sistemas agrícolas convencionais.

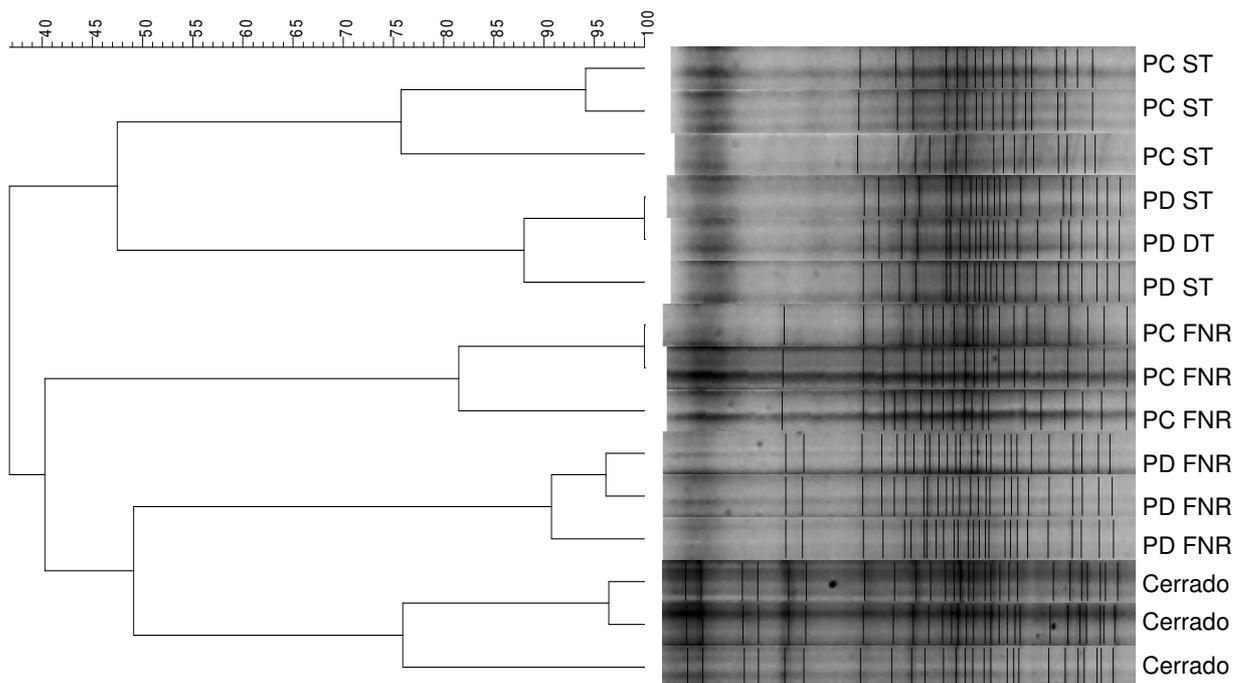
Pouco se sabe sobre a influência de fontes de P na estrutura das comunidades e na diversidade genética das bactérias. No trabalho de Beauregard et al. (2010), foi avaliado o efeito de diferentes doses de fósforo em plantas de alfafa e

encontraram-se apenas leves mudanças na estrutura genética das bactérias do solo. As mudanças no uso do solo associadas ao sistema de manejo e à utilização de pesticidas e fertilizantes proporcionam alterações nas propriedades biológicas do solo (Araújo e Monteiro, 2007). As aplicações de P podem causar, direta ou indiretamente, mudanças nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, aumentando os níveis de saturação desse nutriente. No longo prazo, estas modificações podem resultar em mudanças na qualidade e funcionalidade dos solos (Acton e Gregorich, 1995). Embora muito se saiba sobre o ciclo do fósforo nos solos, em geral, há pouca informação sobre os impactos da adubação fosfatada sobre as estruturas das comunidades microbianas (Rooney e Clipson 2009).

Diante do exposto acima se pode afirmar que os sistemas de manejo do solo, a vegetação presente e a fonte de fósforo utilizada podem afetar a estrutura da comunidade bacteriana do solo.



**A**



**B**

Figura 9: Dendrograma de similaridade da estrutura das comunidades bacterianas de um Latossolo Vermelho sob Cerrado nativo e cultivado em 2009 com milho (A) e em 2010 com soja (B), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), adubado com fosfato natural reativo (FNR) e superfosfato triplo (ST), gerado pelo algoritmo UPGMA e matriz de similaridade de Jaccard a partir dos dados obtidos da análise de DGGE.

### 3.3. Identidade dos isolados bacterianos

Os resultados dos sequenciamentos parciais do gene 16 DNAr dos isolados bacterianos, a partir de colônias predominantes selecionadas dos meios TSA 1/10 e King's B, são apresentados em função de sua homologia com seqüências depositadas no banco de dados do "National Center for Biotechnology Information" (NCBI).

No experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo (tabelas 5 e 6), nas áreas sob cultivo, independente da cultura, manejo, meio de cultura utilizado ou da safra (2008 ou 2009), bactérias *Arthrobacter* spp. foram dominantes, com 30 dos 42 isolados pertencentes a esse gênero. *Arthrobacter* está entre as mais comuns de todas as bactérias de solo. Segundo Moreira e Siqueira (2006), bactérias do gênero *Arthrobacter* podem assumir diferentes formas (pleomorfismo), são comuns tanto no solo quanto na rizosfera, participam da degradação da celulose, são capazes de decompor carbamatos como o aldicarbe, apresentando, portanto, potencial para biorremediação, além de serem oxidadoras de enxofre, participando da ciclagem desse nutriente. Miller et al. (1989), assim como Gomes et al. (2001), também mostraram que as populações dominantes na rizosfera de plantas de milho pertenciam ao gênero *Arthrobacter*. Dentre as explicações para a predominância de *Arthrobacter* nos solos estão sua extrema resistência à seca e sua versatilidade nutricional (Jones e Keddie, 1992). No entanto, o papel dessas bactérias no solo e na rizosfera é praticamente desconhecido (Gomes et al., 2001).

Dentre os 12 isolados restantes analisados nas áreas cultivadas, três outras actinobactérias, assim como o *Arthrobacter*, foram isoladas, uma *Corynebacterium* na cultura do milho sob PC e duas *Streptomyces* nas culturas do milho e soja, sob PC e PD respectivamente, todas na safra 2009.

As actinobactérias, também denominadas actinomicetos por apresentarem semelhanças com fungos, compreendem espécies de patógenos humanos e animais, mas, também espécies exclusivamente isoladas de solo. São produtoras de metabólitos como antibióticos e enzimas, estando envolvidas no processo de decomposição de materiais orgânicos, como celulose, quitina, lignocelulose, húmus, caseína e amido, estabelecendo, assim, um papel crucial no volume de matéria orgânica e ciclagem de C (Lacey, 1973; Moreira e Siqueira, 2006). Podem participar

também do ciclo do P, sintetizando fosfatases capazes de hidrolisar o P de compostos orgânicos. Alguns gêneros podem estabelecer simbiose radicular com formação de nódulos e fixação biológica de N em algumas plantas leguminosas (Moreira e Siqueira, 2006). Actinobactérias do gênero *Corynebacterium* também podem ser capazes de atuar na nitrificação, ou seja, na conversão do amônio em nitrato. *Streptomyces* é muito abundante em solos, tendo merecido destaque em estudos de bioprospecção devido a sua versatilidade na produção de diversos produtos naturais de ampla atividade biológica (Hodgson, 2000)

De acordo com Coelho e Drozdowicz (1978), em solos de Cerrados com vegetação nativa, a ocorrência das populações de actinomicetos na comunidade microbiana apresenta predominância do gênero *Streptomyces*. Perturbações no solo através de práticas agrícolas, como a calagem, têm resultado em desequilíbrios das populações na comunidade microbiana, favorecendo as populações de actinomicetos (Cattelan e Vidor, 1990; Pereira et al., 1996). Essa influência da agricultura sobre a população microbiana dos solos ficou evidente em nossos resultados, porém, foi *Arthrobacter* e não *Streptomyces*, o gênero dominante nas áreas cultivadas estudadas.

Bactérias do gênero *Bacillus* foram as mais encontradas após *Arthrobacter*, sendo que 5 isolados identificados, todos presentes em áreas cultivadas com milho. De acordo com Siqueira e Franco (1988), bactérias do gênero *Bacillus* estão entre aquelas de maior ocorrência nos solos, juntamente com *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas* e *Micrococcus*. Assim como *Arthrobacter*, alguns *Bacillus* também apresentam potencial para biorremediação. Além disso, são especialistas na decomposição de xilanas (hemicelulose), degradam pectinas e complexos lignocelulosídicos, são capazes de efetuar a nitrificação e a solubilização de fosfatos, participando, assim, do ciclo do N e do P, respectivamente (Moreira e Siqueira, 2006). Tanto *Bacillus cereus* quanto *Bacillus thuringiensis* são utilizados na produção de biopesticidas, pois, essas bactérias são, geralmente, entomo-patogênicas (Polanczyk, 2004). *Bacillus thuringiensis* é a espécie de maior importância no controle de pragas agrícolas, sendo uma bactéria Gram-positiva, aeróbica ou anaeróbica facultativa, caracterizando-se pela produção de corpos paraesporais, denominados cristais (Brobowsky et al., 2003) que são formados por diferentes polipeptídios, conhecidos como proteínas Cry, com atividade inseticida a diversas ordens de insetos, além de

nematóides, protozoários e ácaros (Capalbo et al., 2005). Já *Bacillus cereus*, com esporos cilíndricos e elípticos, geralmente em posição central, é considerada não-cristalífera, embora possa causar virulência e patogenicidade em espécies de insetos (Habib e Andrade, 1998). Portanto, não é surpresa que essas bactérias tenham sido indentificadas nas áreas cultivadas com milho, uma planta hospedeira de pragas que podem ser infectadas por *Bacillus*, como a lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) e a broca européia (*Ostrinia nubilalis*). Além de *Bacillus*, outro organismo pertencente à classe Bacilli foi isolado, o *Paenibacillus*, encontrado em área cultivada com soja sob PD, na safra 2008. *Paenibacillus* é outra bactéria comum de solo, e segundo Timmusk et al. (1999) são capazes de fixar nitrogênio, solubilizar fósforo no solo, produzir antibióticos, auxina, citocinina, quitinase e enzimas hidrolíticas, bem como a promoção da porosidade do solo.

Completando a lista de indivíduos identificados nas áreas cultivadas estão dois isolados de *Pseudomonas* presentes em solo cultivado com soja e um isolado de *Bradyrhizobium*, também oriundo de área de soja, sob PD, na safra 2009. Espécies de *Pseudomonas* constituem um importante grupo em solos agrícolas, elas são capazes de colonizar as raízes e produzir compostos antifúngicos, que são importantes na supressão biológica de doenças de plantas no solo (Haas e Défago, 2005). Um exemplo são as *Pseudomonas* que produzem 2,4 - diacetylphloroglucinol (PHL) e / ou ácido cianídrico (HCN), que são particularmente eficazes no controle biológico de uma ampla gama de doenças do solo em diversas culturas (Rezzonico et al., 2007). Já o gênero *Bradyrhizobium* é de grande importância na agricultura, essas bactérias são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico em simbiose com algumas leguminosas como a soja. Segundo Hungria et al. (2007), todo N requerido pela cultura da soja pode ser suprido pela fixação biológica de nitrogênio. Se considerarmos os 23,5 milhões de hectares plantados com soja no Brasil, a economia proporcionada pela não utilização de adubos nitrogenados é da ordem de R\$ 15,5 bilhões (Mendes et al., 2010). A ocorrência desta bactéria já era esperada, pois a soja foi inoculada com esta bactéria no momento do plantio.

Os isolados predominantes no solo sob Cerrado nativo foram identificados como pertencentes ao gênero *Burkholderia* (6 entre 12 isolados), bactérias totalmente distintas das presentes nas áreas cultivada. Além desses, foram encontrados, ainda, 4 isolados de *Bacillus*, um de *Streptomyces* e um de *Pseudomonas*.

De acordo com os resultados obtidos, as bactérias cultiváveis mais comuns no solo sob Cerrado nativo avaliado pertencem ao gênero *Burkholderia*. Provavelmente, após a conversão do cerrado para área agrícola, implicando na alteração de diversas características originais do solo, essas bactérias deixaram de ser dominantes dando lugar às actinobactérias do gênero *Arthrobacter*. Além disso, não se pode deixar de citar a supressão da vegetação nativa para o cultivo de milho e soja como um dos fatores que podem ter levado a essa mudança das bactérias dominantes em cada área. Claramente as comunidades microbianas podem ser influenciadas pela vegetação (Watkinson, 1998). Espécies de plantas diferentes podem influenciar a composição das comunidades microbianas devido às diferentes respostas das populações de microrganismos aos diferentes padrões de exsudação radicular (Miller et al., 1989). Mahaffee e Kloepper (1997) afirmaram, com base nos seus resultados, que *Bacillus* e *Arthrobacter* eram as bactérias de solo cultiváveis mais dominantes.

O gênero *Burkholderia* apresenta amplo potencial agrícola e biotecnológico por apresentar espécies com capacidade para a fixação biológica de nitrogênio, a produção de fitormônios, a supressão de alguns fitopatógenos, a possibilidade de controle de pragas, ação biorremediadora e produção de biopolímeros (Perin et al., 2006). Salles et al. (2004) afirmaram que o histórico de uso da terra tem mais influência sobre a comunidade de *Burkholderia* que as espécies de plantas presentes em uma determinada área. Algumas *Burkholderias* possuem a capacidade de colonizar a rizosfera de plantas como milho, trigo, arroz, capim, aveia, tremoço e café em altas densidades populacionais, podendo, assim, expandir o potencial de aplicação destes microrganismos (van Elsas et al., 2002). Por exemplo, Baldani et al. (2000) isolaram, no Brasil, uma espécie endofítica de *Burkholderia* de plantas de arroz, que se mostrou capaz de fixar 31% do nitrogênio total capturado pela planta. Eles ainda demonstraram que a inoculação de arroz com essa espécie levou a um aumento de 69% na produção de biomassa da planta. Além disso, os aumentos no rendimento de culturas devido à introdução de cepas diazotróficas de *Burkholderia* também foram observados em cana e milho (Riggs et al., 2001). Segundo Reis Junior et al. (2010), a nodulação em plantas nativas pertencentes ao gênero *Mimosa*, do qual o Cerrado é o maior centro de diversidade, é decorrente, em sua grande maioria, da simbiose com bactérias do gênero

*Burkholderia* e, provavelmente, a fixação biológica promovida por essa interação é valiosa para a ciclagem do N nesse Bioma.

Tabela 5: Identidade das sequências parciais do 16S DNAr de isolados bacterianos de área sob Latossolo Vermelho-Amarelo (anos 2008 e 2009), selecionados do meio de cultura TSA 1/10, comparadas com seqüências depositadas no NCBI utilizando o programa BLAST para análises.

Isolado	Identificação	Nº de acesso	Identidade (%)	Subdivisão (Classe)
<b>Milho Plantio Direto</b>				
- - - Ano 2008 - - -				
12	<i>Arthrobacter sp.</i>	gb FJ267540.1	405/440 (92%)	Actinobacteria
57	<i>Bacillus cereus</i>	gb CP001186.1	778/786 (98%)	Bacilli
- - - Ano 2009 - - -				
51S	<i>Arthrobacter alkaliphilus</i>	db J AB248527.2	855/867 (98%)	Actinobacteria
52S	<i>Arthrobacter sp.</i>	gb AF408967.1	898/916 (98%)	Actinobacteria
54S	<i>Arthrobacter sp.</i>	gb AF408967.1	858/874 (98%)	Actinobacteria
<b>Milho Preparo Convencional</b>				
- - - Ano 2008 - - -				
22	<i>Arthrobacter sp.</i>	db J AB248533.1	682/697 (97%)	Actinobacteria
18	<i>Arthrobacter sp.</i>	gb EU342346.1	666/676 (98%)	Actinobacteria
51	<i>Arthrobacter sp.</i>	gb AY651318.1	278/287 (96%)	Actinobacteria
- - - Ano 2009 - - -				
70S	<i>Arthrobacter pascens</i>	gb FJ390469.1	877/899 (97%)	Actinobacteria
77S	<i>Arthrobacter sp.</i>	db J AB248530.1	892/916 (97%)	Actinobacteria
89S	<i>Streptomyces sp.</i>	gb AY314785.1	869/891 (97%)	Actinobacteria
<b>Soja Plantio Direto</b>				
- - - Ano 2008 - - -				
8	<i>Arthrobacter sp.</i>	gb FJ517623.1	744/761 (97%)	Actinobacteria
55	<i>Arthrobacter sp.</i>	gb EF078488.1	714/726 (98%)	Actinobacteria
56	<i>Arthrobacter sp.</i>	gb FJ389669.1	645/661 (97%)	Actinobacteria
- - - Ano 2009 - - -				
8S	<i>Arthrobacter sp.</i>	gb GQ288420.1	801/815 (98%)	Actinobacteria
26S	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	gb FJ959100.1	789/807 (97%)	$\alpha$ -proteobacteria
46S	<i>Streptomyces lavendulae</i>	gb EF469608.1	816/830 (98%)	Actinobacteria

### Soja Preparo Convencional

--- Ano 2008 ---				
10	<i>Arthrobacter sp.</i>	gblAF408967.1l	729/740 (98%)	Actinobacteria
17	<i>Arthrobacter sp.</i>	gblEF078488.1l	737/745 (98%)	Actinobacteria
--- Ano 2009 ---				
4S	<i>Arthrobacter sp.</i>	gblAF408967.1l	895/918 (97%)	Actinobacteria
28S	<i>Arthrobacter sp.</i>	gblEF110914.1l	700/700 (100%)	Actinobacteria
78S	<i>Arthrobacter nitroguajacolicus</i>	emblFN908764.1l	874/893 (97%)	Actinobacteria
Cerrado				
--- Ano 2008 ---				
23	<i>Burkholderia sp.</i>	gblAF508806.1l	713/742 (96%)	β-proteobacteria
24	<i>Burkholderia sp.</i>	gblAF508806.1l	515/525 (98%)	β-proteobacteria
49	<i>Burkholderia sp.</i>	gblCP000151.1l	713/718 (99%)	β-proteobacteria
--- Ano 2009 ---				
1S	<i>Bacillus cereus</i>	emblAJ539175.1l	873/887 (98%)	Bacilli
3S	<i>Burkholderia tropica</i>	gblEF139182.1l	808/825 (97%)	β-proteobacteria
5S	<i>Burkholderia sp.</i>	gblGQ181152.1l	754/773 (97%)	β-proteobacteria

Tabela 6: Identidade das sequências parciais do 16S DNAr de isolados bacterianos de área sob Latossolo Vermelho-Amarelo (anos 2008 e 2009), selecionados do meio de cultura King's B comparadas com seqüências depositadas no NCBI, utilizando o programa BLAST para análises.

Isolado	Identificação	Nº de acesso	Identidade (%)	Subdivisão (Classe)
Milho Plantio Direto				
--- Ano 2008 ---				
15	<i>Arthrobacter sp.</i>	dbjlAB248530.1l	812/841 (96%)	Actinobacteria
33	<i>Bacillus cereus</i>	gblCP001283.1l	495/515 (96%)	Bacilli
--- Ano 2009 ---				
61S	<i>Arthrobacter sp.</i>	gblFJ890893.1l	843/859 (98%)	Actinobacteria
63S	<i>Arthrobacter sp.</i>	gblFJ890893.1l	851/860 (98%)	Actinobacteria
65S	<i>Arthrobacter ureafaciens</i>	emblFN433020.1l	658/674 (97%)	Actinobacteria

### Milho Preparo Convencional

--- Ano 2008 ---

2	<i>Arthrobacter globiformis</i>	gblM23411.11	746/759 (98%)	Actinobacteria
39	<i>Bacillus cereus</i>	gblCP001186.11	721/738(97%)	Bacilli
43	<i>Bacillus cereus</i>	gblCP001186.11	897/904 (99%)	Bacilli

--- Ano 2009 ---

20S	<i>Bacillus sp.</i>	gblAY853168.11	901/921 (97%)	Bacilli
22S	<i>Corynebacterium pseudodiphthericum</i>	emblAJ439343.11	712/737 (96%)	Actinobacteria
60S	<i>Arthrobacter sp.</i>	gblAY336539.11	702/714 (98%)	Actinobacteria

**Soja Plantio Direto**

--- Ano 2008 ---

7	<i>Arthrobacter sp.</i>	gblEU086825.1	748/765 (97%)	Actinobacteria
44	<i>Paenibacillus sp.</i>	gblFJ267562.11	618/647 (95%)	Bacilli

--- Ano 2009 ---

19S	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	gblHM439651.11	432/433 (99%)	γ-proteobacteria
91S	<i>Arthrobacter sp.</i>	gblFJ890893.11	896/917 (97%)	Actinobacteria

**Soja Preparo Convencional**

--- Ano 2008 ---

1	<i>Arthrobacter globiformis</i>	dbjlAB098573.11	831/872 (99%)	Actinobacteria
37	<i>Pseudomonas sp.</i>	gblEU099412.11	410/416 (98%)	γ-proteobacteria

--- Ano 2009 ---

10S	<i>Arthrobacter niigatensis</i>	gblGU332594.11	431/433 (99%)	Actinobacteria
18S	<i>Arthrobacter chlorophenolicus</i>	gblAY167845.11	898/916 (98%)	Actinobacteria
66S	<i>Arthrobacter sp.</i>	gblAF408967.11	757/763 (99%)	Actinobacteria

**Cerrado**

--- Ano 2008 ---

31	<i>Pseudomonas sp.</i>	gblAY463204.11	253/257 (98%)	γ-proteobacteria
32	<i>Bacillus cereus</i>	gblCP001186.1	557/570 (97%)	Bacilli
46	<i>Bacillus thuringiensis</i>	emblAM292316.1	514/528 (97%)	Bacilli

--- Ano 2009 ---

14S	<i>Burkholderia tropica</i>	dbjlAB252074.11	636/653 (97%)	β-proteobacteria
21S	<i>Streptomyces tsukiyonensis</i>	dbjlAB184594.11	916/934 (98%)	Actinobacteria
32S	<i>Bacillus cereus</i>	gblFJ189786.11	905/925 (97%)	Bacilli

Ao contrario do que foi observado nas áreas sob Latossolo Vermelho Amarelo, 8 bactérias classificadas como *Burkholderia* foram isoladas de solo sob cultivo no Latossolo Vermelho (Tabelas 7 e 8), sendo o gênero mais predominante nesse experimento. Tal diferença pode ser atribuída a uma série de fatores, como por exemplo, o tipo de solo, manejo adotado e utilização de fontes diferentes de fósforo na adubação. Neste experimento utilizou-se o milho como planta de cobertura e irrigação suplementar no período de seca, alterando, assim, a umidade, temperatura e quantidade/tipo de resíduos no solo, fatores que, segundo Xavier et al. (2006), exercem grande influência sobre a população microbiana.

Dentro da classe das  $\beta$ -proteobactérias, a qual pertencem as burkholderias, também foram identificados 2 isolados de *Ralstonia* em áreas sob PC, um isolado de *Cupriavidus* e um isolado de *Variovorax* ambos na safra 2010, no tratamento com fosfato natural e preparo convencional. O gênero *Ralstonia* possui espécies amplamente citadas como bactérias causadoras de doenças em plantas (Schönfeld et al., 2003, Prior e Fegan, 2005), enquanto *Cupriavidus* possui espécies capazes de fixar nitrogênio atmosférico em nódulos formados em raízes e caules de leguminosas (Barret e Parker, 2006), já *Variovorax* está envolvida em processos como a promoção de crescimento de plantas e a remediação de xenobióticos (Jamieson et al., 2009).

Com 7 entre 40 isolados analisados, bactérias identificadas como *Bacillus* formaram um dos grupos mais abundantes nesta área. Ainda dentro da classe Bacilli foi isolada uma bactéria com alta similaridade com *Paenibacillus xynalilyticus*, na safra de 2009, no tratamento com superfosfato triplo e preparo convencional.

Apresentando alta similaridade com o gênero *Arthrobacter* foram encontrados 7 isolados e dentro da classe Actinobacteria ainda foram identificados 2 isolados de *Leifsonia*, um isolado de *Streptomyces*, uma *Lechevalieria*, uma *Lentzea*, uma *Microbacterium* e um *Actinomycete*. O gênero *Leifsonia* tem espécies que já foram isoladas de diversos ambientes, como amostras de solo, galhas de nematóides e até de água de um lago antártico (Reddy et al., 2003), além disso, a espécie *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* foi descrita como a responsável pelo raquitismo da soqueira, uma doença cosmopolita da cana-de-açúcar (Gillaspie, 1989). Bactérias do gênero *Lechevalieria* (anteriormente classificadas como *Saccharothrix*) são capazes de produzir antibióticos, antifúngicos, antitumores e até herbicidas como o fosfotricina.

Mais recentemente, Lee et al. (2004) isolaram de uma cultura de *Lechevalieria aerocolonigenes* a thiobutacina, substância capaz de inibir fungos fitopatogênicos como *Phytophthora capsici* e *Botrytis cinerea*, além da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Bactérias do gênero *Lentzea* são estimuladas pela presença de quitina no solo e utilizam este composto como fonte de carbono e nitrogênio (Hjort et al., 2006). A produção de quitinase por essa bactéria também é citada como mecanismo de controle biológico contra fungos fitopatogênicos, como por exemplo, *Plasmodiophora brassicae* (Kobayashi et al., 2002). *Microbacterium* tem sido isolado de uma vasta gama de habitats, por exemplo, plantas, água, solo, ar, produtos lácteos e seres humanos (Dastager et al., 2008).

Em solo sob PC adubado com FNR, ainda foram identificados dois isolados pertencentes ao gênero *Pantoea*, da classe das  $\gamma$ -proteobactérias e um isolado apresentando alta similaridade com uma bactéria não cultivada presente no banco de dados do NCBI. No solo cultivado com soja (safra 2010) sob PD e adubado com FNR foram identificadas uma *Chryseobacterium* (Classe Flavobacteria) e um isolado de *Rhizobium* ( $\alpha$ -proteobactéria). Um *Acinetobacter* ( $\gamma$ -proteobactéria) também foi isolado nessa safra em solo sob PD, mas adubado com ST.

De acordo com Francés et al. (2006), o gênero *Pantoea*, isolado de uma vasta gama de habitats como plantas, água, solo e animais, apresenta potencial para o controle biológico de doenças fúngicas e bacterianas de pré e pós colheita, entretanto, em outros estudos, algumas espécies de *Pantoea* foram relatadas como patogênicas, causando doenças de plantas como a murcha vascular em milho (Stewart, 1987), galha em raízes de beterraba (Burr et al., 1991) ferrugem bacteriana em *Eucalyptus* (Coutinho et al., 2002) e a necrose da haste em plantas de arroz (Coother et al., 2004). Por outro lado, algumas espécies de *Pantoea* são consideradas promotoras de crescimento em plantas. Luz (2001) afirmou que *Pantoea agglomerans* foi capaz de aumentar o crescimento de plantas de trigo e reduzir a ocorrência de fungos patogênicos. Assumpção et al. (2009) relatam que *Pantoea sp.* é capaz de produzir o ácido indol acético, um fitormônio relacionado com a promoção do crescimento radicular.

O isolado 84D apresentou alta similaridade com uma bactéria identificada apenas como *Uncultured bacterium* (bactéria não cultivada), citada por Byrne et al. (2009) em um estudo sobre as variações das condições ambientais nas

comunidades microbiológicas em hidrotermas profundas do Atlântico. Porém, nenhum detalhe sobre esta bactéria foi relatado.

Os membros do gênero *Chryseobacterium* ocorrem em uma variedade de ambientes, incluindo solo, água salgada e doce, leite cru, frango, peixes doentes, lama e biorreatores (Quan et al., 2007), sendo citada como decompositora de atrazina (Zhou et al., 2007), substância utilizada como herbicida, que, inclusive, foi utilizada nas áreas avaliadas nesse estudo.

As bactérias de solo do gênero *Rhizobium* interagem simbioticamente com leguminosas, resultando na formação de nódulos nas raízes em que as bactérias fixam nitrogênio (Long, 1989), além disso, o rizóbio e algumas bactérias do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus*, estão entre os microrganismos mais eficientes em solubilizar fosfatos inorgânicos pouco solúveis presentes no solo (Rodríguez e Fraga, 1999).

*Acinetobacter* é uma bactéria de ocorrência ubíqua no solo e na água, podendo ser agente importante na mineralização aeróbia de matéria orgânica na natureza. Uma propriedade marcante destas bactérias é a sua capacidade de crescer à custa de uma grande variedade de compostos orgânicos como fonte única de carbono e de nitrato como única fonte de nitrogênio. Outra propriedade é a sua taxa de crescimento relativamente elevada a 30° C (Baumann, 1968). Ogut et al. (2010), avaliando cepas de *Acinetobacter* com alto potencial de solubilização de P *in vitro*, encontraram uma relação linear entre a solubilização bacteriana de P em meio líquido e o conteúdo de P nas plantas inoculadas, porém, tal aumento de fósforo na planta não está bem esclarecido.

Nesse experimento além de PC e PD também foi inserido o fator adubação fosfatada, com a utilização de uma fonte mais solúvel (ST) e outra pouco solúvel (FNR). Nesse contexto, a presença de organismos reconhecidos como solubilizadores de fosfatos poderia ser interessante, principalmente nos tratamentos onde foi aplicado o FNR. Vários autores relatam que algumas espécies de *Bacillus* são capazes de solubilizar fosfatos (Banerjee et al., 2010, Rodríguez e Fraga, 1999) tendo sido até mesmo utilizados em inoculantes de solubilizadores (Moreira e Siqueira, 2006). Malboobi et al. (2009), estudando estirpes promissoras de bactérias solubilizadoras de fósforo, destacam a alta atividade de fosfatase produzida por *Pantoea agglomerans*, que de acordo com Son et al. (2006) é capaz de se desenvolver em uma faixa de pH de 3 - 11 e sob temperatura de 5 – 45°C. Além

destas, foram citadas como solubilizadoras de fosfatos bactérias do gênero *Actinomycete* (Barreto et al.; 2008), *Arthrobacter* (Aipova et al., 2010), *Streptomyces* (Sousa et al., 2008), *Chryseobacterium* (Chen et al., 2006), *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* e *Rhizobium* (Rodríguez e Fraga, 1999). A presença dessas bactérias pode auxiliar na disponibilidade de fósforo para as culturas, melhorando, assim, a eficiência dos fertilizantes fosfatados, inclusive de fontes pouco solúveis como o fosfato natural reativo.

Assim como o observado no experimento anterior, os isolados predominantes no solo sob Cerrado nativo foram identificados como pertencentes ao gênero *Burkholderia* (5 entre 9 isolados), e além desses, foram encontrados, ainda, isolados relacionados aos gêneros *Arthrobacter* (1 isolado), *Streptomyces* (2 isolados) e *Bacillus* (1 isolado).

De acordo com os resultados de identificação das bactérias predominantes nos dois solos estudados, fica evidente a maior diversidade de organismos apresentada no experimento sob Latossolo Vermelho (17 gêneros em 6 classes de bactérias, além de uma bactéria desconhecida) em comparação ao Latossolo Vermelho Amarelo (7 gêneros em 4 classes). Além das características intrínsecas de cada solo, assim como já foi discutido sobre a presença de bactérias do gênero *Burkholderia* em áreas sob cultivo, os distintos manejos adotados nos dois experimentos podem ser fatores determinantes para explicar essas diferenças.

Tabela 7: Identidade das seqüências parciais do 16S DNAr de isolados bacterianos de área sob Latossolo Vermelho (anos 2009 e 2010) selecionados do meio de cultura TSA 1/10 comparadas com seqüências depositadas no NCBI, utilizando o programa BLAST para análises.

Amostra	Identificação	Nº de acesso	Identidade (%)	Subdivisão (Classe)
<b>Superfosfato Triplo Preparo Convencional</b>				
- - - Ano 2009 (Milho) - - -				
70D	<i>Paenibacillus xylanilyticus</i>	gbIFJ696707.11	885/902 (98%)	Bacilli
75D	<i>Ralstonia sp.</i>	dbjLAB503703.11	860/882 (97%)	β-proteobacteria
78D	<i>Arthrobacter alkaliphilus</i>	dbjLAB248527.21	868/883 (98%)	Actinobacteria
- - - Ano 2010 (Soja) - - -				
247	<i>Microbacterium oxydans</i>	emblAM921642.11	776/795 (97%)	Actinobacteria
251	<i>Burkholderia sp.</i>	dbjLAB545645.11	911/921 (98%)	β-proteobacteria

252	<i>Uncultured Ralstonia sp.</i>	gblEU705607.1l	972/1000 (97%)	$\beta$ -proteobacteria
-----	---------------------------------	----------------	----------------	-------------------------

### Superfosfato Triplo Plantio Direto

--- Ano 2009 (Milho) ---

82D	<i>Arthrobacter sp.</i>	gblFJ890893.1l	781/800 (97%)	Actinobacteria
88D	<i>Lechevalieria aerocolonigenes</i>	gblEU593597.1l	896/911 (98%)	Actinobacteria

--- Ano 2010 (Soja) ---

272	<i>Burkholderia sp.</i>	dbjlAB232333.1l	874/889 (98%)	$\beta$ -proteobacteria
275	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	gblFJ976598.1l	839/866 (96%)	$\gamma$ -proteobacteria

### Fosfato Natural Reativo Preparo Convencional

--- Ano 2009 (Milho) ---

76D	<i>Pantoea ananatis</i>	dbjlAB297969.1l	908/923 (98%)	$\gamma$ -proteobacteria
79D	<i>Burkholderia sp.</i>	gblFJ800557.1l	594/601 (98%)	$\beta$ -proteobacteria
84D	<i>Uncultured bacterium</i>	emblFM242723.1l	870/945 (92%)	-----

--- Ano 2010 (Soja) ---

234	<i>Pantoea agglomerans</i>	gblEF102834.1l	892/916 (97%)	$\gamma$ -proteobacteria
254	<i>Arthrobacter sp.</i>	dbjlAB248530.1l	884/898 (98%)	Actinobacteria
255	<i>Bacillus sp.</i>	gblEU372974.1l	907/925 (98%)	Bacilli

### Fosfato Natural Reativo Plantio Direto

--- Ano 2009 (Milho) ---

72D	<i>Bacillus sp.</i>	gblAY853168.1l	910/933 (97%)	Bacilli
74D	<i>Bacillus sp.</i>	gblAY853168.1l	848/867 (97%)	Bacilli
89D	<i>Lentzea sp.</i>	gblFJ214358.1l	854/863 (98%)	Actinobacteria

--- Ano 2010 (Soja) ---

225	<i>Burkholderia cepacia</i>	gblHM224394.1l	877/887 (98%)	$\beta$ -proteobacteria
257	<i>Rhizobium sp.</i>	gblAF510388.1l	852/872 (97%)	$\alpha$ -proteobacteria
277	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	gblAY050493.1l	917/936 (97%)	Flavobacteria

### Cerrado

--- Ano 2009 ---

67D	<i>Bacillus cereus</i>	gblFJ189786.1l	664/674 (98%)	Bacilli
-----	------------------------	----------------	---------------	---------

--- Ano 2010 ---

221	<i>Burkholderia sp.</i>	gblGU966532.1l	936/962 (97%)	$\beta$ -proteobacteria
230	<i>Streptomyces sp.</i>	dbjlAB572859.1l	919/931 (98%)	Actinobacteria
235	<i>Arthrobacter sp.</i>	dbjlAB248530.1l	879/893 (98%)	Actinobacteria

Tabela 8: Identidade das sequências parciais do 16S DNAr de isolados bacterianos de área sob Latossolo Vermelho (anos 2009 e 2010) selecionados do meio de cultura King's B comparadas com seqüências depositadas no NCBI, utilizando o programa BLAST para análises.

Amostra	Identificação	Nº de acesso	Identidade (%)	Subdivisão (Classe)
<b>Superfosfato Triplo Preparo Convencional</b>				
- - - Ano 2009 (Milho) - - -				
77D	<i>Arthrobacter sp.</i>	dbj AB248530.1	711/729 (97%)	Actinobacteria
- - - Ano 2010 (Soja) - - -				
181	<i>Burkholderia sp.</i>	dbj AB545645.1	876/889 (98%)	β-proteobacteria
191	<i>Bacillus sp.</i>	gb FJ601631.1	584/611 (95%)	Bacilli
214	<i>Burkholderia cepacia</i>	gb GQ246182.1	885/907 (97%)	β-proteobacteria
<b>Superfosfato Triplo Plantio Direto</b>				
- - - Ano 2009 (Milho) - - -				
61D	<i>Bacillus cereus</i>	gb GQ360073.1	502/506 (99%)	Bacilli
63D	<i>Bacillus sp.</i>	gb GU566345.1	604/606 (99%)	Bacilli
- - - Ano 2010 (Soja) - - -				
186	<i>Arthrobacter sp.</i>	gb AF408967.1	908/921 (98%)	Actinobacteria
188	<i>Arthrobacter sp.</i>	gb AF408967.1	905/918 (98%)	Actinobacteria
206	<i>Actinomycete P069.</i>	gb EU718311.1	926/945 (97%)	Actinobacteria
<b>Fosfato Natural Reativo Preparo Convencional</b>				
- - - Ano 2009 (Milho) - - -				
81D	<i>Leifsonia xyli</i>	gb GU332619.1	932/947 (98%)	Actinobacteria
- - - Ano 2010 (Soja) - - -				
168	<i>Cupriavidus sp.</i>	gb EU882153.1	823/840 (97%)	β-proteobacteria
175	<i>Variovorax sp.</i>	embl FM163609.1	431/432 (99%)	β-proteobacteria
195	<i>Bacillus thuringiensis</i>	gb FJ601912.1	439/443 (99%)	Bacilli
<b>Fosfato Natural Reativo Plantio Direto</b>				
- - Ano 2009 (Milho) - - -				
60D	<i>Burkholderia sp.</i>	gb FJ606689.1	781/804 (97%)	β-proteobacteria
83D	<i>Burkholderia cepacia</i>	gb EF012764.1	883/896 (98%)	β-proteobacteria

- - - Ano 2010 (Soja) - - -

166	<i>Leifsonia xyli</i>	gblGU332619.11	904/927 (97%)	Actinobacteria
207	<i>Arthrobacter ureafaciens</i>	emblFN433020.11	894/902 (99%)	Actinobacteria
211	<i>Streptomyces sp.</i>	gblEU624495.11	860/872 (98%)	Actinobacteria

**Cerrado**

- - Ano 2009 - - -

64D	<i>Burkholderia sp.</i>	gblAY769903.11	835/842 (99%)	$\beta$ -proteobacteria
66D	<i>Burkholderia cepacia</i>	gblGQ200825.11	809/816 (99%)	$\beta$ -proteobacteria

- - - Ano 2010 - - -

208	<i>Burkholderia sp.</i>	gblFJ947098.21	870/882 (98%)	$\beta$ -proteobacteria
210	<i>Arthrobacter sp.</i>	dbjlAB248530.11	888/897 (98%)	Actinobacteria
212	<i>Burkholderia sp.</i>	dbjlAB545645.11	912/936 (97%)	$\beta$ -proteobacteria

### 3.4. Identidade das bandas recortadas de perfis de DGGE

As bandas recortadas dos géis foram re-amplificadas, clonadas, sequenciadas e comparadas com função de sua homologia com sequências depositadas no banco de dados do “National Center for Biotechnology Information” (NCBI). Após a identificação, essas bandas mostraram homologia com sequências bastante diversas, sendo a maioria identificada como bactérias não cultiváveis.

Em 2008, nas amostras coletadas no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, foram recortadas apenas 7 bandas do gel (Figura 10). As bandas SPD I, SPC I e CER I foram identificadas como bactérias não cultiváveis (Tabela 9), não apresentando qualquer informação sobre família ou classe, já a sequência da banda MPD I, apresentou 95% de similaridade com *Methylosinus sp.*, uma  $\alpha$ -proteobacteria identificada por Roesch et al. (2007), como diazotrófica endofítica associada ao milho. A banda MPC I, que pela sua posição e intensidade parece pertencer a uma das populações dominantes nas áreas sob a cultura do milho, teve 97% de similaridade com uma *Acidovorax sp.* não cultivável, microrganismo pertencente à classe das  $\beta$ -proteobacterias. Estirpes de *Acidovorax* têm sido citadas como patógenas em meloeiro (Hopkins e Thompson, 2002), orquídeas, aveia (Willems et al., 1992), arroz (Goto, 1964) e milho (Schaad et al., 1975) onde é responsável pela mancha bacteriana, doença que afeta as folhas da cultura. A banda marcada como

SPC II, aparentemente exclusiva de áreas cultivadas com soja, apresentou 99% de similaridade com *Bosea* sp., uma  $\alpha$ -proteobacteria citada como capaz de promover o crescimento direta ou indiretamente de plantas de milho (Pedrinho, 2009), também citada por Falk et al. (2010), como portadora do gene nitrito redutase (*nirK*), responsável pela desnitrificação e relatada por Zakhia et al. (2006), como um habitante comensal de nódulos de leguminosas na Tunísia, embora seja incapaz de induzir a formação de nódulos. A banda CER II, uma das dominantes e exclusivas das áreas de cerrado, teve 94% de similaridade com uma *Polyangiaceae* não cultivável, uma  $\delta$ -proteobacteria também encontrada em solos da Mata Atlântica paranaense por Faoro (2006).

Tabela 9: Identidade das sequências dos fragmentos de DNA (16S DNAr) obtidas a partir das bandas recortadas do DGGE da área sob Latossolo Vermelho-Amarelo (2008), comparadas com sequências depositadas no NCBI, utilizando o programa BLAST para análises.

Banda	Identificação	Nº de acesso	Identidade (%)	Subdivisão (Classe)
<b>Milho Plantio Direto</b>				
MPD I	<i>Methylosinus</i> sp.	gblAF150802.11	346/362 (95%)	$\alpha$ -proteobacteria
<b>Milho Preparo Convencional</b>				
MPC I	<i>Acidovorax</i> sp. não cultivável	gblFJ486130.11	416/425 (97%)	$\beta$ -proteobacteria
<b>Soja Plantio Direto</b>				
SPD I	Bactéria não cultivável	gblEU589378.11	422/425 (99%)	-----
<b>Soja Preparo Convencional</b>				
SPC I	Bactéria não cultivável	dbjlAB240258.11	423/425 (99%)	-----
SPC II	<i>Bosea</i> sp.	gblEU652489.11	99% (428/432)	$\alpha$ -proteobacteria
<b>Cerrado</b>				
CER I	Bactéria não cultivável	gblEU335329.11	99% (426/427)	-----
CER II	<i>Polyangiaceae</i> não cultivável	gblEU193073.11	94% (398/421)	$\delta$ -proteobacteria

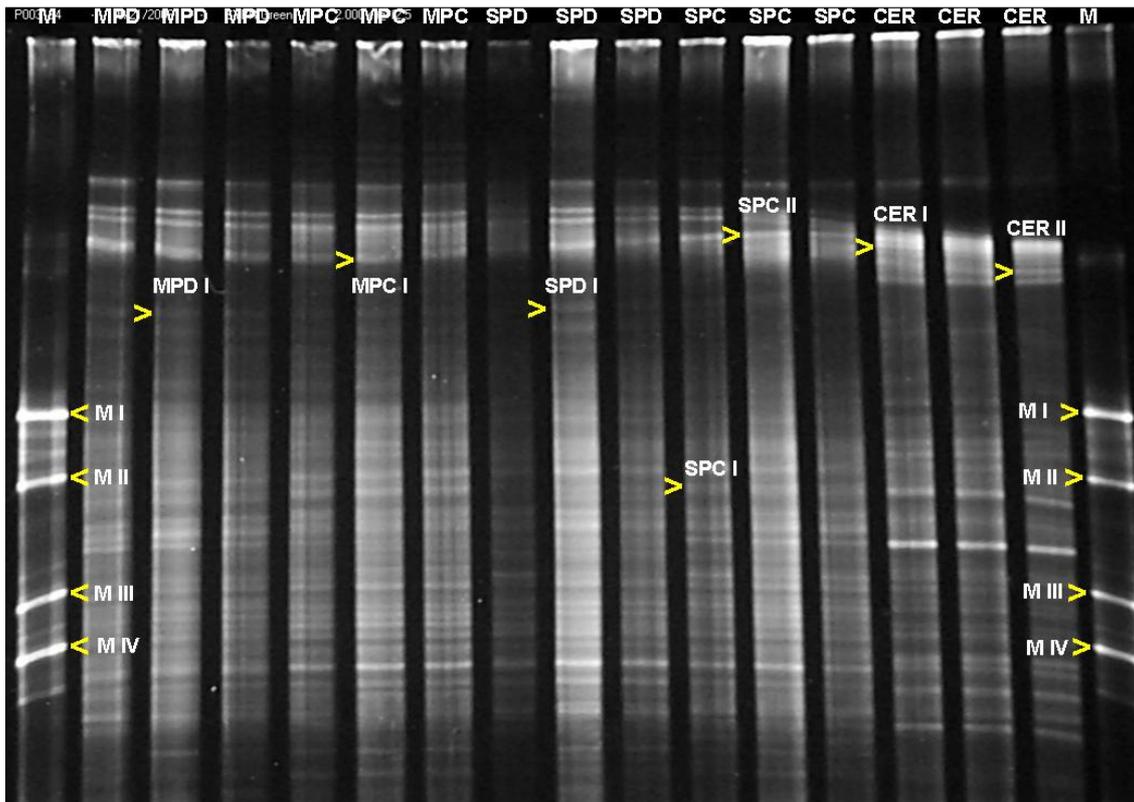


Figura 10: Bandas de DGGE selecionadas para sequenciamento em amostras coletadas em 2008 no experimento sob Latossolo Vermelho-Amarelo. M = marcador (16S DNAr): M I: *Sinorhizobium fredii*; M II: *Rhizobium tropici* IIA; M III: *Burkholderia* sp.; M IV: *Azospirillum brasilense*; MPD = Milho PD; MPC = Milho PC; SPD = Soja PD; SPC = Soja PC; CER = Cerrado nativo. O símbolo em amarelo “>” demonstra os locais das bandas recortadas, com seus respectivos códigos identificadores.

Em 2009 foram recortadas 19 bandas (Figura 11), das quais apenas 6 não foram identificadas como “bactéria não cultivável” (Tabela 10). Dentre essas identificadas como de bactérias não cultiváveis, pode-se destacar, por sua intensidade, o que pode indicar também maior abundância, as seqüências obtidas das bandas CER VI, MPD II e III e MPC II.

Em meio às seqüências de bandas que apresentaram similaridade com bactérias conhecidas, duas pertencem à classe das Actinobactérias, sendo uma *Streptomyces* sp. (banda CER V) e a outra uma *Mycobacterium* (banda MPC IV), organismo muito abundante no solo (Iivanainen et al., 1997) capaz de degradar o sulfeto de carbonila (Kato et al., 2008), composto mais abundante em enxofre da atmosfera (Chin e Davis, 1995), que tem como principal reservatório o solo (Watts,

2000). Duas bandas apresentaram similaridade com indivíduos da classe  $\beta$ -proteobacteria, sendo uma *Burkholderia* sp. (banda CER III) e uma  $\beta$ -proteobactéria não cultivada (SPC V). Interessante notar a presença de *Burkholderia* sp. em amostras de mata nativa, já que esse também foi um grupo que se destacou nessas áreas no estudo com bactérias cultivadas. Tanto *Streptomyces* quanto *Burkholderia* já foram detalhadas, e podem ser encontradas na discussão sobre os isolados bacterianos. A banda SPD IV apresentou 99% de similaridade com uma Acidobactéria não cultivável, classe de bactéria descrita por Eichorst et al. (2007) como abundante em solos. A banda MPC VI teve 98% de similaridade com uma *Dokdonella* não cultivável, uma  $\gamma$ -proteobacteria. Haichar et al. (2008), identificando comunidades bacterianas que assimilam exsudatos radiculares na rizosfera de quatro espécies de plantas, também recortaram bandas de DGGE de suas amostras, encontrando uma espécie de *Dokdonella* apenas na rizosfera de milho, assim como em nosso trabalho, entretanto, a função desta bactéria ainda não é conhecida (Rodrigues et al., 2010).

Tabela 10: Identidade das sequências dos fragmentos de DNA (16S DNAr) obtidas a partir das bandas recortadas do DGGE da área sob Latossolo Vermelho-Amarelo (2009), comparadas com sequências depositadas no NCBI, utilizando o programa BLAST para análises.

Banda	Identificação	Nº de acesso	Identidade (%)	Subdivisão (Classe)
<b>Milho Plantio Direto</b>				
MPD II	Bactéria não cultivável	gbIEU134238.11	405/407 (99%)	-----
MPD III	Bactéria não cultivável	gbIEU134238.11	405/407 (99%)	-----
MPD IV	Bactéria não cultivável	gbLAY391002.11	409/416 (98%)	-----
<b>Milho Preparo Convencional</b>				
MPC II	Bactéria não cultivável	gbIGQ376726.1	421/429 (98%)	-----
MPC III	Bactéria não cultivável	gbIEF516766.11	422/425 (99%)	-----
MPC IV	<i>Mycobacterium</i> sp.	gbIEU977810.11	429/431 (99%)	Actinobacteria
MPC V	Bactéria não cultivável	gbLAY917480.11	424/428 (99%)	-----
MPC VI	<i>Dokdonella</i> sp. não cultivável	gbIEU276578.11	424/431 (98%)	$\gamma$ -proteobacteria
<b>Soja Plantio Direto</b>				
SPD II	Bactéria não cultivável	gbIGU172183.11	423/426 (99%)	-----
SPD III	Bactéria não cultivável	gbLAY930186.11	416/429 (96%)	-----
SPD IV	Acidobactéria não cultivável	gbIGU374431.11	424/428 (99%)	Acidobactéria
<b>Soja Preparo Convencional</b>				
SPC III	Bactéria não cultivável	gbIEF516791.11	423/424 (99%)	-----
SPC IV	Bactéria não cultivável	dbjIAB487995.11	420/425 (98%)	-----

SPC V	$\beta$ -proteobacteria não cultivável	gblAY921995.11	426/429 (99%)	$\beta$ -proteobacteria
<b>Cerrado</b>				
CER III	<i>Burkholderia</i> sp	gblAY528706.11	410/413 (99%)	$\beta$ -proteobacteria
CER IV	Bactéria não cultivável	gblAY326574.11	427/429 (99%)	-----
CER V	<i>Streptomyces</i> sp.	gblDQ994696.11	421/435 (96%)	Actinobacteria
CER VI	Bactéria não cultivável	gblEF019817.11	431/432 (99%)	-----
CER VII	Bactéria não cultivável	gblAY930236.11	416/422 (98%)	-----

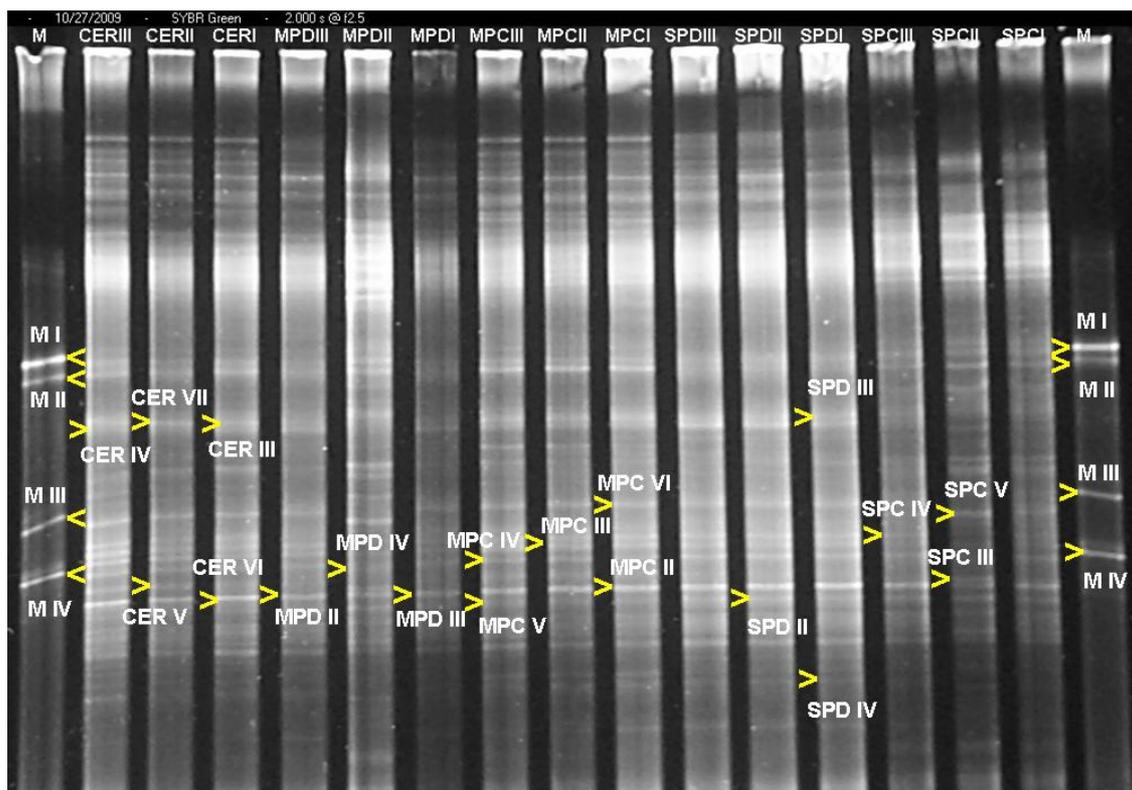


Figura 11: Bandas de DGGE selecionadas para sequenciamento em amostras coletadas em 2009 no experimento sob Latossolo Vermelho-Amarelo. M = marcador (16S DNAr): M I: *Sinorhizobium fredii*; M II: *Rhizobium tropici* IIA; M III: *Burkholderia* sp.; M IV: *Azospirillum brasilense*; MPD = Milho PD; MPC = Milho PC; SPD = Soja PD; SPC = Soja PC; CER = Cerrado nativo. O símbolo em amarelo “>” demonstra os locais das bandas recortadas, com seus respectivos códigos identificadores.

No experimento sob Latossolo Vermelho, no ano de 2009, foram recortadas 11 bandas do DGGE (Figura 12), destas, 10 apresentaram, no mínimo, 96% de similaridade com bactérias desconhecidas, com destaque para a banda mais intensa, CER X, que parece ser exclusiva de amostras áreas de mata nativa. Entre

as demais, a banda FNRPD II 98% com uma Gemmatimonadetes, também não cultivável (Tabela 11). Curiosamente, a banda FNRPD II parece ser exclusiva de áreas cultivadas, onde também se destaca por sua intensidade. O filo *Gemmatimonadetes* possui apenas uma espécie isolada (*Gemmatimonas aurantiaca*), bactéria gram-negativa, aeróbia e mesofílica encontrada em lamas de um sistema de tratamento de esgoto, descrito por Zhang et al. (2003). Ocorre em diversos ambientes como lodos industriais, sedimentos marinhos e solos (Nunes, 2006) sendo encontrada também em solos de Terra Preta antropogênica da Amazônia (Cannavan, 2007).

Tabela 11: Identidade das sequências dos fragmentos de DNA (16S DNAr) obtidas a partir das bandas recortadas do DGGE da área sob Latossolo Vermelho (2009), cultivada com milho, comparadas com sequências depositadas no NCBI, utilizando o programa BLAST para análises.

<b>Banda</b>	<b>Identificação</b>	<b>Nº de acesso</b>	<b>Identidade (%)</b>	<b>Subdivisão (Classe)</b>
<b>Fosfato Natural Reativo Plantio Direto</b>				
FNRPD I	Bactéria não cultivável	gbIGU172188.1l	429/431 (99%)	-----
FNRPD II	Gemmatimonadetes não cultivável	gbIDQ514128.1l	424/431 (98%)	Gemmatimonadetes
FNRPD III	Bactéria não cultivável	gbIEF606625.1l	426/429 (99%)	-----
<b>Fosfato Natural Reativo Preparo Convencional</b>				
FNRPC I	Bactéria não cultivável	dbjLAB486667.1l	424/428 (99%)	-----
<b>Superfosfato Triplo Plantio Direto</b>				
STPD I	Bactéria não cultivável	gbIAY917612.1l	424/428 (99%)	-----
STPD II	Bactéria não cultivável	gbIDQ125862.1l	418/424 (98%)	-----
STPD III	Bactéria não cultivável	gbIGU172188.1l	429/431 (99%)	-----
<b>Cerrado</b>				
CER VIII	Bactéria não cultivável	gbHM263240.1l	430/435 (98%)	-----
CER IX	Bactéria não cultivável	gbIEF516966.1l	433/436 (99%)	-----
CER X	Bactéria não cultivável	gbIEU216581.1l	414/416 (99%)	-----
CER XI	Bactéria não cultivável	gbIAY930186.1l	416/429 (96%)	-----

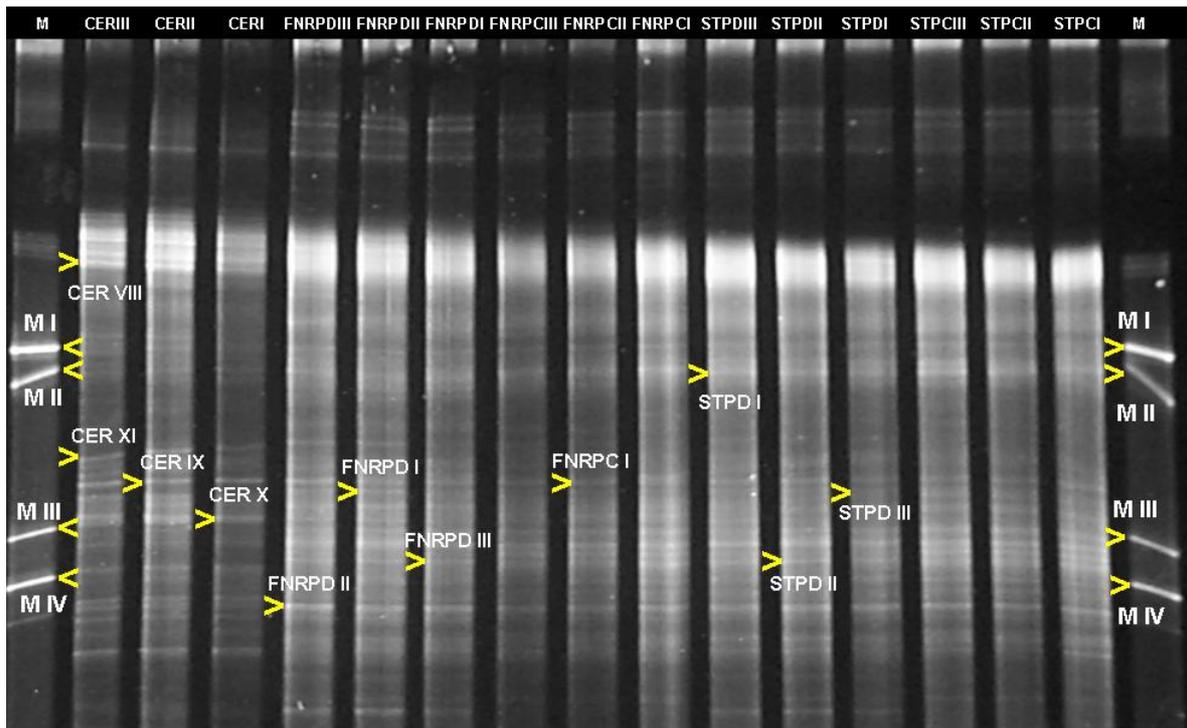


Figura 12: Bandas de DGGE selecionadas para sequenciamento em amostras coletadas em 2009, sob a cultura do milho, no experimento sob Latossolo Vermelho. M = marcador (16S DNAr): M I: *Sinorhizobium fredii*; M II: *Rhizobium tropici* IIA; M III: *Burkholderia sp.*; M IV: *Azospirillum brasilense*; FNRPD = Fosfato natural reativo PD; FNRPC = Fosfato natural reativo PC; STPD = Superfosfato triplo PD; STPC = Superfosfato triplo PC; CER = Cerrado nativo; O símbolo em amarelo ">" demonstra os locais das bandas recortadas, com seus respectivos códigos identificadores.

No ano de 2010 foram recortadas 18 bandas do DGGE (Figura 13), das quais apenas 5 apresentaram classe definida.

A banda CER XVI, restrita às áreas de cerrado nativo, apresentou 97% de similaridade com uma Acidobacteria não cultivável. Por outro lado, como já observado no ano anterior, uma banda intensa e exclusiva das áreas cultivadas, representada pela FNRPC II, mostrou 98% de similaridade com uma *Gemmatimonadales* não cultivável. Já a banda STPD VII, que também parece mais relacionada às áreas cultiváveis, apresentou 94% de similaridade com uma  $\beta$ -proteobactéria não cultivável (Tabela 12). As outras duas bandas (FNRPD VII e CER XIV) foram classificadas como pertencentes à classe das  $\alpha$ -proteobacterias, uma apresentou 99% de similaridade com uma *Hyphomicrobium* não cultivável e a outra

97% com uma  $\alpha$ -proteobactéria também não cultivável. De acordo com Young e Haukka (1996), algumas bactérias pertencentes ao grupo das  $\alpha$ -proteobactérias são capazes de fixar nitrogênio simbioticamente, entre elas, destacam-se os gêneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mezorhizobium*, *Allorhizobium*, *Azorhizobium* e *Bradyrhizobium*. Já o gênero *Hyphomicrobium* tem sido observado em vários habitats, inclusive o solo (Hirsch e Rades-Rohkohl, 1983), sendo que algumas espécies são capazes de promover a desnitrificação a partir do metanol (Kloos et al., 1995). Além dessas, a banda STPC II foi identificada como uma proteobactéria, entretanto, não se sabe ao certo à que classe esta bactéria pertence.

As bandas STPD IV e STPD V parecem ser mais abundantes em solos adubados com ST que aqueles com FNR, assim, pode ser que o tipo de adubo fosfatado esteja influenciando estas comunidades. Já as bandas CER XIII E CER XV parecem ser dominantes em solos sob vegetação natural, sendo provável que a conversão para a agricultura seja limitante para tais bactérias.

Tabela 12: Identidade das sequências dos fragmentos de DNA (16S DNAr) obtidas a partir das bandas recortadas do DGGE da área sob Latossolo Vermelho (2010), cultivada com soja, comparadas com sequências depositadas no NCBI, utilizando o programa BLAST para análises.

Banda	Identificação	Nº de acesso	Identidade (%)	Subdivisão (Classe)
<b>Fosfato Natural Reativo Plantio Direto</b>				
FNRPD IV	Bactéria não cultivável	gbIFJ479317.11	426/432 (98%)	-----
FNRPD V	Bactéria não cultivável	gbIEF494273.11	426/436 (97%)	-----
FNRPD VI	Bactéria não cultivável	gbIEF492926.11	426/431 (98%)	-----
FNRPD VII	<i>Hyphomicrobium</i> não cultivável	gbIEF626830.11	429/432 (99%)	$\alpha$ -proteobacteria
FNRPD VIII	Bactéria não cultivável	gbIGU375367.11	420/432 (97%)	-----
<b>Fosfato Natural Reativo Preparo Convencional</b>				
FNRPC II	Gemmatimonadales não cultivável	gbIFJ889266.11	427/434 (98%)	Gemmatimonadetes
<b>Superfosfato Triplo Plantio Direto</b>				
STPD IV	Bactéria não cultivável	gbIFJ479248.11	431/435 (99%)	-----
STPD V	Bactéria não cultivável	gbIEU134238.11	407/410 (99%)	-----
STPD VI	Bactéria não cultivável	gbIHM444375.11	418/429 (97%)	-----
STPD VII	$\beta$ -proteobacteria não cultivável	emblAJ581621.11	411/434 (94%)	$\beta$ -proteobacteria
<b>Superfosfato Triplo Preparo Convencional</b>				
STPC I	Bactéria não cultivável	gbIEU223949.11	429/431 (99%)	-----
STPC II	Proteobactéria não cultivada	gbIEF019491.11	394/428 (92%)	-----
STPC III	Bactéria não cultivável	gbIEU694689.11	421/434 (97%)	-----

**Cerrado**

CER XII	Bactéria não cultivável	gbIDQ347850.11	427/431 (99%)	-----
CER XIII	Bactéria não cultivável	gbIEU861842.11	396/429 (92%)	-----
CER XIV	$\alpha$ -proteobacteria não cultivável	gbIEF220708.11	425/435 (97%)	$\alpha$ -proteobacteria
CER XV	Bactéria não cultivável	gbIEF516607.11	408/411 (99%)	-----
CER XVI	Acidobacteria não cultivável	gbIEF588407.11	424/437 (97%)	Acidobactéria

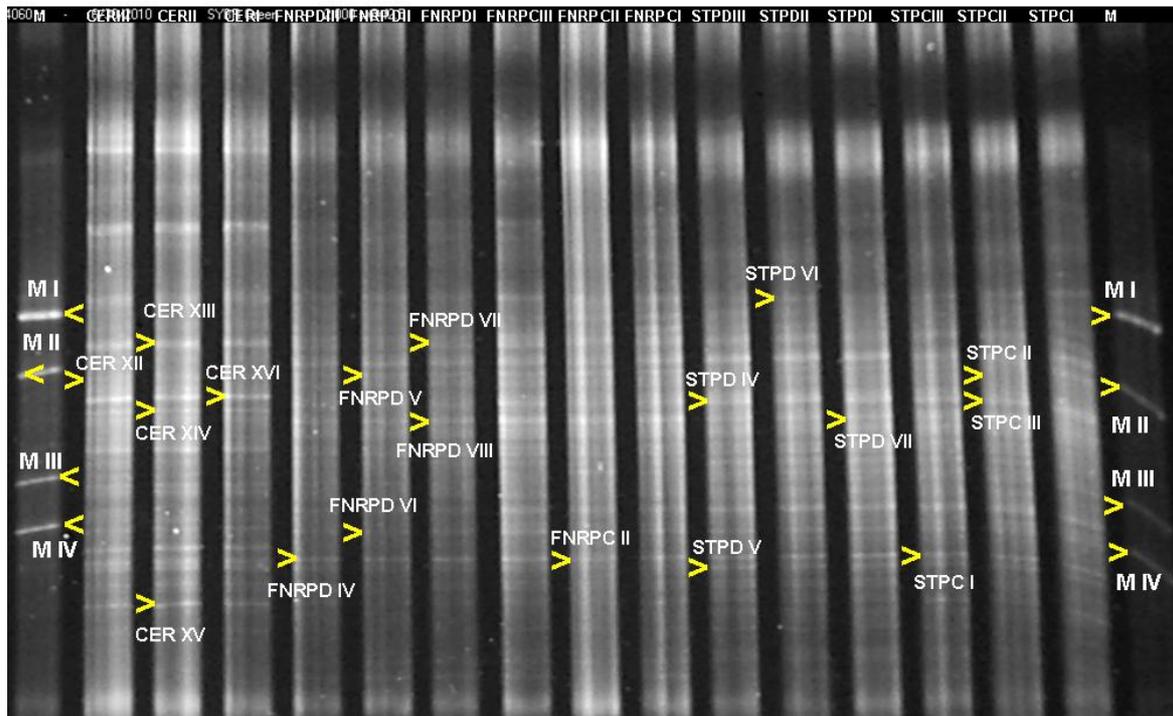


Figura 13: Bandas de DGGE selecionadas para sequenciamento em amostras coletadas em 2010, sob a cultura da soja, no experimento sob Latossolo Vermelho. M = marcador (16S DNAr): M I: *Sinorhizobium fredii*; M II: *Rhizobium tropici* IIA; M III: *Burkholderia* sp.; M IV: *Azospirillum brasilense*; FNRPD = Fosfato natural reativo PD; FNRPC = Fosfato natural reativo PC; STPD = Superfosfato triplo PD; STPC = Superfosfato triplo PC; CER = Cerrado nativo. O símbolo em amarelo “>” demonstra os locais das bandas recortadas, com seus respectivos códigos identificadores.

As bandas MPD II, MPD III (tabela 10) e STPD V (tabela 12) apresentaram similaridade com a mesma bactéria não cultivável, identificada no banco de dados pelo acesso gb|EU134238.1|. Outros acessos, também identificados como bactérias não cultiváveis, apresentaram similaridade com mais de uma banda, como gb|AY930186.1| que teve 96% de similaridade com as bandas SPD III (tabela 10) e

CER XI (tabela 11) e o acesso gb|GU172188.1|, com 99% de semelhança com as bandas FNRPD I (tabela 10) e STPD III (tabela 9). Haichar et al. (2008) também observaram a presença de certas bandas migrando no mesmo nível dos perfis de DGGE, e após a análise de DNA, as sequências obtidas foram idênticas. Tal resultado corrobora o que se observa nos géis (Figuras 11, 12 e 13), já que as bandas que corresponderam a um mesmo acesso também apresentaram posicionamento semelhante.

Todos os géis obtidos apresentaram uma grande diversidade de bandas, sendo que várias são de difícil visualização. Bresolin et al. (2010), comparando as comunidades bacterianas e fúngicas de um solo sob cerrado nativo e outro sob monocultura de soja, também encontraram perfis de DGGE com um grande número de bandas, sendo várias delas de baixa intensidade, o que indica a presença de comunidades de estrutura complexa. Além disso, todas as bandas recortadas por esses autores foram identificadas como bactérias e fungos não cultiváveis, assim como a maioria das bandas recortadas em nosso trabalho.

Analisando os resultados obtidos a partir do sequenciamento do 16S DNAr das bactérias cultiváveis observa-se que a grande maioria dos isolados pertenciam as classes Actinobacteria, Bacilli e  $\beta$ -proteobacteria, enquanto que a maioria das bandas recortadas do DGGE, foi identificada como bactérias não cultiváveis. Interessante notar que nenhuma das bandas recortadas foi identificada como *Arthrobacter*, a bactéria mais abundante entre aquelas isoladas com uso de meios de cultivo, além disso, a maioria das bandas sequenciadas que retornaram homologia com bactérias conhecidas (*Methylosinus* sp, *Bosea* sp, *Polyangiaceae* sp., *Acidovorax* sp., *Dokdonella* sp. entre outras), não foram observadas entre os isolados bacterianos.

Esses resultados estão de acordo com Heuer e Smalla (1997) que também indicaram que os padrões gerados pela análise do DNA extraído diretamente de solos de rizosfera tiveram apenas algumas bandas em comum com os respectivos padrões da fração cultivável. Da mesma maneira McCaig et al. (2001), encontraram muito pouco em comum entre as comunidades bacterianas acessadas por métodos dependentes e independentes de cultivo. A maioria das sequências em bibliotecas de clones são diferentes de sequências de bactérias cultiváveis representadas nos bancos de dados (McCaig et al., 2001). Dunbar et al. (1999) acreditam que essas diferenças observadas, quando se aplicam métodos dependentes e independentes

de cultivo, acontecem porque cada metodologia acessa distintos segmentos das comunidades bacterianas.

Nikolausz et al. (2005), com uma re-amplificação do DNA da região inter-bandas de um gel desnaturante, descobriram que o padrão de bandas pode não ser simplesmente o resultado da separação de amplicons diferentes, de acordo com o comportamento de desnaturação, mas uma conseqüência de interações complexas entre diferentes estruturas de DNA. De acordo com Chen et al. (2007), mesmo que uma banda apareça em um perfil de DGGE como uma única banda, ela pode conter pequenas quantidades de DNA diferente, por resultado de uma co-migração de bandas. Isto justifica o observado em nosso trabalho, onde algumas bandas recortadas, apesar de apresentarem perfil eletroforético parecido, não foram associadas ao mesmo indivíduo (acesso), além disso, não se pode desprezar o viés da própria metodologia do DGGE (Bresolin et al., 2010), que acumula, ainda, os impactos da extração de DNA e a amplificação por PCR, que também podem contribuir para erros maiores (Hermansson e Lindgren, 2001). De acordo com Peixoto et al. (2006), embora as reais comparações entre as populações do solo provavelmente só possam ser alcançadas por meio de sequenciamento massivo de todos os componentes, a utilização de perfis de DGGE tem se mostrado uma ferramenta poderosa para avaliar as diferenças entre as estruturas das comunidades do solo. Ainda de acordo com os autores, embora não seja realista supor que valores absolutos do número de espécies dentro de uma comunidade possam ser obtidas através de perfis de DGGE, pode ser uma abordagem adequada em análises comparativas dos membros dominante das comunidades. Não está claro até que ponto os padrões de bandas de DGGE refletem a verdadeira estrutura de uma comunidade diferenciada pelo manejo, mas é provável que as diferenças entre os tratamentos de preparo sejam reais, pois o potencial para viés da metodologia é comum a todas as amostras.

### **3.5. Relação entre estrutura genética, estrutura metabólica e os atributos químicos, físicos e biológicos.**

O teste de Mantel (Tabela 13) revelou que houve correlação significativa, nos dois anos avaliados, entre as matrizes geradas a partir dos perfis de DGGE, das análises em microplacas Ecolog<sup>TM</sup> e das propriedades químicas, físicas e biológicas dos solos estudados. Portanto, as alterações observadas nos atributos do solo, devido ao seu manejo, podem ser acompanhadas, também, por variações na composição das comunidades bacterianas e suas características funcionais. Diante disso, se pode afirmar que todas as propriedades do solo estão interligadas como um todo e que mudanças em uma dessas propriedades podem implicar em alterações em diversas outras. Em 2008 foi observado 71% de relação entre a matriz produzida pelos atributos QFB e a estrutura genética das comunidades bacterianas do solo, demonstrando que as práticas agrícolas, além de alterar as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, atingem diretamente as populações bacterianas, favorecendo algumas espécies em detrimento de outras.

Neste mesmo ano observa-se que o comportamento dos atributos QFB teve, também, forte relação com o perfil metabólico das comunidades bacterianas do solo (77%), comprovando que as práticas agrícolas são capazes de influenciar as características funcionais dessas comunidades, que, por exemplo, graças ao aporte de diferente material vegetal e insumos químicos, obtiveram diferentes fontes de energia e nutrientes.

Observa-se, ainda, uma relação de 62% entre a estrutura genética das comunidades bacterianas baseada nos resultados de DGGE e o perfil metabólico dos microrganismos do solo. Essa observação vai ao encontro do que foi proposto por Zak et al. (1994), que afirmam que esse perfil metabólico é uma consequência, não apenas dos efeitos ambientais e das interações ecológicas entre diferentes populações, mas também da diversidade genética presente.

Em 2009, a correlação entre as características analisadas foram menores, porém, ainda significativas.

Tabela 13: Relação entre as matrizes obtidas a partir da estrutura genética, perfil metabólico e atributos químicos, físicos e biológicos das áreas sob Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), de acordo com o teste estatístico de Mantel.

<b>Matriz</b>	<b>Ano 2008</b>		<b>Ano 2009</b>	
	<b>DGGE</b>	<b>Ecolog</b>	<b>DGGE</b>	<b>Ecolog</b>
<b>DGGE</b>	1		1	
<b>Ecolog</b>	0,62	1	0,38	1
<b>Atributos QFB</b>	0,71	0,77	0,55	0,53

$p < 0,01$ .

Atributos QFB = Atributos químicos, físicos e biológicos.

Assim como no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, o teste de Mantel (Tabela 14) revelou que houve correlação significativa entre as matrizes geradas nos dois anos de avaliação, ou seja, a adubação, a vegetação e o manejo do solo promovem alterações nas propriedades químicas, físicas e biológicas, que podem interferir sobre a composição das comunidades bacterianas e seu perfil metabólico. Isso acontece porque todas as características encontram-se, em maior ou menor grau, interrelacionadas.

Nota-se que em 2009, sob a cultura do milho, houve uma forte relação (85%) entre o perfil metabólico e a estrutura genética das comunidades bacterianas. Tal fato é facilmente comprovado ao se observar o dendrograma de similaridade derivado do DGGE (Figura 9 A) e o gráfico que apresenta as diferenças na estrutura funcional, gerado a partir das microplacas Ecolog<sup>TM</sup> (Figura 6), já que tanto um quanto o outro apresentaram resultados onde as áreas adubadas com ST foram agrupadas e aquelas com FNR foram separadas, de acordo com o manejo utilizado. As mudanças nos atributos QFB também apresentaram forte relação com as alterações sofridas pelas populações bacterianas (72%) e o perfil metabólico das comunidades de microrganismos do solo (82%). No ano seguinte, nota-se que as correlações entre os fatores avaliados foram menores, porém, significativas. A menor relação observada ocorreu entre os atributos QFB e o perfil metabólico, o que é corroborado ao se analisar os resultados apresentados pela PCA (Figura 6 do capítulo 1) e o perfil metabólico das comunidades bacterianas (Figura 7), já que aquela análise separou as áreas adubadas com FNR, entre PC e PD, e esta agrupou tais tratamentos.

Peixoto et al. (2010), analisando a estrutura das comunidades bacterianas por DGGE e atributos químicos e bioquímicos de solos de Cerrado sob PD e PC, também encontraram correlação entre suas matrizes, confirmando que há conexões positivas entre tais atributos. Os autores desse trabalho comentam que houve relação entre as comunidades bacterianas e altos níveis de P, K, e Ca+Mg, o que indica que o uso do solo altera, concomitantemente, suas características químicas, a diversidade, a biomassa e a atividade microbiana. Foi citado, como exemplo, o uso de calcário e fertilizantes, práticas que alteram o pH e os níveis de nutrientes e que, por sua vez, podem selecionar populações específicas de bactérias, que estão em melhores condições para crescer nas novas condições. De acordo com Chaer et al. (2009) uma nova população recém selecionada ainda pode fornecer um perfil funcional diferente para o solo, o que provavelmente afeta vários processos bioquímicos. Coutinho et al. (2002) também avaliaram a relação entre perfis de DGGE e diversos atributos do solo, encontrando que 9 variáveis (textura, densidade, pH, Al, Ca+Mg, Na, K, H+Al e C) apresentaram correlação significativa com a diversidade das bactérias presentes nas amostras. Costa (2010), avaliando os impactos do manejo da cana-de-açúcar sobre propriedades edáficas e suas relações com as comunidades bacterianas em solo de Cerrado, encontraram que fatores relacionados à agregação do solo, mineralogia, fertilidade e temperatura direcionaram as mudanças na estrutura das comunidades bacterianas do solo.

De acordo com Peixoto et al. (2010) o conhecimento de como a diversidade e função dos microrganismos são afetadas por variações abióticas, causadas pela gestão agrícola, pode ser fundamental para a realização de práticas sustentáveis.

Tabela 14: Relação entre as matrizes obtidas a partir da estrutura genética, perfil metabólico e atributos químicos, físicos e biológicos das áreas sob Latossolo Vermelho cultivados com milho (2009) e soja (2010), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC) e adubados com duas fontes de fósforo, superfosfato triplo (ST) e fosfato natural reativo (FNR), de acordo com o teste estatístico de Mantel.

Matriz	Ano 2009 (milho)		Ano 2010 (soja)	
	DGGE	Ecolog	DGGE	Ecolog
DGGE	1		1	
Ecolog	0,85**	1	0,32**	1
Atributos QFB	0,72**	0,82**	0,33**	0,22*

\*\*  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ .

Atributos QFB = Atributos químicos, físicos e biológicos.

#### 4. CONCLUSÕES

- Os sistemas agrícolas avaliados alteraram a estrutura genética e o perfil metabólico das comunidades bacterianas em relação ao Cerrado nativo.
- Solos adubados com fosfato natural reativo sob plantio direto apresentaram estrutura genética das comunidades bacterianas mais semelhante às encontradas no Cerrado original sob Latossolo Vermelho.
- As metodologias dependentes e independentes de cultivo acessaram uma porção diferente da comunidade bacteriana.
- Indivíduos pertencentes ao gênero *Burkholderia* foram as bactérias mais abundantes nos solos estudados sob mata nativa. Sob as áreas cultivadas, houve o predomínio de indivíduos pertencentes aos gêneros *Arthrobacter*, *Bacillus* e *Burkholderia*. Uma grande quantidade de bactérias desconhecidas foram observadas com a utilização do DGGE, em todas as áreas estudadas.
- Variações nos atributos químicos, físicos e biológicos estão associadas às variações na estrutura genética e no perfil metabólico das comunidades bacterianas do solo.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACTON, D.F.; GREGORICH, L.J.; **La santé de nos sols: vers une agriculture durable au Canada**. Centre de recherches sur les terres et les ressources biologiques. Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa. 138p. 1995.

AIPOVA, R.; AITKELDIYEVA, S.A.; KURMANBAYEV, A.A.; SADANOV, A.K.; TOPALOVA, O.B.; Assessment of biotechnological potential of phosphate solubilizing bacteria isolated from soils of Southern Kazakhstan. **Natural Science**, v.2, p.841 - 845. 2010.

ALTSCHUL, S.F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E.W. AND LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v.215, p.403 - 410, 1990.

ARAÚJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R.; Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v.23, p.66 - 75, 2007.

ASSUMPÇÃO, L.C.; LACAVAL, P.T.; DIAS, A.C.F.; AZEVEDO, J.L.; MENTEN, J.O.M.; Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.503 - 510, 2009.

BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I.; DOBEREINER, J.; Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. **Biology & Fertility of Soils**, v.30, p.485-491. 2000.

BANERJEE, S., PALIT R.; SENGUPTA, C.; STANDING, D.; Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. isolated from tomato rhizosphere. **Australian Journal of Crop Science**, v.4, p.378 - 383. 2010.

BAREA, J.M.; POZO, M.J.; AZCÓN, R.; AZCÓN-AGUILAR, C.; Microbial co-operation in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v.56, p.1761 - 1778, 2005.

BARRET, F.F.; PARKER, M.A.; Coexistence of *Burkholderia*, *Cupriavidus* and *Rhizobium* sp nodule bacteria on two *Mimosa* spp. In Costa Rica. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, p.1198 – 1206, 2006.

BARRETO, T.R.; SILVA, A.C.M.; SOARES, A.C.F.; SOUZA, J.T.; Population densities and genetic diversity of *actinomycetes* associated to the rhizosphere of *Theobroma cacao*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.39, p.464 - 470, 2008.

BAUMANN, P.; Isolation of *Acinetobacter* from Soil and Water. **Journal of Bacteriology**. v.96, p.39 – 42. 1968.

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.

BRESOLIN, J.D; BUSTAMANTE, M.M.C; KRÜGER, R.H; SILVA, M.R.S.S; PEREZ, K.S.; Structure and composition of bacterial and fungal community in soil under soybean monoculture in the Brazilian Cerrado. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, p.391 - 403, 2010.

BROBOWSKI, V.L.; FIUZA, L.M.; PASQUALI, G.; BODANEZEZANETTINI, M.H.; Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, v.33, p.843 - 850, 2003.

BURR, T.J.; KATZ, B.H.; ABAWI, G.S.; CROSIER, D.C.; Comparison of tumorigenic strains of *Erwinia herbicola* isolated from table beet with *E.h. gypsophilae*, **Plant Disease**, v.75, p.855 – 858. 1991.

BYRNE, N.; LESONGEUR, F.L.; BIENVENU, N.; GESLIN, C.; ALAIN, K.; PRIEUR, D.; GODFROY, A.; Effect of variation of environmental conditions on the microbial communities of deep-sea vent chimneys, cultured in a bioreactor. **Extremophiles**, v.13, p.595 – 608, 2009.

CANNAVAN, F.S.; **Diversidade das comunidades bacterianas em solos de Terra Preta antropogênica da Amazônia Central e Oriental.** (Dissertação de Mestrado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – USP. 115p. 2007.

CAPALBO, D.M.F.; VILAS-BÔAS, G.T.; ARANTES, O.M.N.; SUZUKI, M.T.; *Bacillus thuringiensis*. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.34, p.69 - 85, 2005.

CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.14, p.125 - 132, 1990.

CHAER, G.; FERNANDES, M.; MYROLD, D.; BOTTOMLEY, P.; Comparative resistance and resilience of soil microbial communities and enzyme activities in adjacent native forest and agricultural soils. **Microbial Ecology**, v.8, p.414 – 424, 2009.

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 of America Journal**, v.73, p.1327 – 1334. 2009.

CHEN, M.M.; ZHU, Y.G.; SU, Y.H.; CHEN, B.D.; FU, B.J.; MARSCHNER, P. Effects of soil moisture and plant interactions on the soil microbial community structure. **European Journal of Soil Biology**. v.43, p.31-38, 2007.

CHEN, Y.P.; REKHA, P.D.; ARUN, A.B.; SHEN, F.T.; LAI, W.A.; YOUNG C.C.; Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. **Applied Soil Ecology**, v.34, p.33 – 41. 2006.

CHIN, M.; DAVIS, D.D.; A reanalysis of carbonyl sulfide as a source of stratospheric background sulfur aerosol. **Journal of Geophysical Research**, v.100, p.8993–9006, 1995.

CLASSEN, A.T.; BOYLE, S.I.; HASKINS, K.E.; OVERBY, S.T.; HART, S.C.; Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. *FEMS Microbiology Ecology*, v.44, p.319 – 328. 2003.

COELHO, R.R.R.; DROZDOWICZ, A.; The occurrence of *actinomycetes* in a cerrado soil in Brazil. **Révue d' Ecologie et de Biologie du Sol**, v.15, p.459 - 473, 1978.

COTHER, E.J.; REINKE, R.; MCKENZIE, C.; LANOISELET, V.M. NOBLE, D.H.; An unusual stem necrosis of rice caused by *Pantoea ananas* and the first record of this pathogen on rice in Australia, **Australian plant pathology**, v.33, p.495 – 503. 2004.

COUTINHO, H.L.; FERNANDES, I.S.; ABOIM, M.R.; PEIXOTO, R.S.; ROSADO, A.S.; MACHADO, P.L.O.A.; MADARI, B.; ANDRADE, A.G.; BENITES, V.M.; SILVA, C.A.; LIMA, J.A.; GUIMARÃES, C.; Índice de impacto à diversidade microbiana (IDM), um novo indicador biológico para avaliação da qualidade do solo. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas (FERTBIO 2002), 2002, Rio de Janeiro. **Fertbio 2002 - Agricultura: bases ecológicas para o desenvolvimento social e econômico sustentado**. Viçosa : Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002.

COUTINHO, T.A.; PREISIG, O.; MERGAERT, J.; CNOCKAERT, M.C.; RIEDEL, K.H.; SWINGS, J.; WINGFIELD, M.J.; Bacterial blight and dieback of *Eucalyptus* species, hybrids and clones in South Africa, **Plant Disease**, v.86, p.20 – 25. 2002.

DALY, K.; JEFFREY, D.; TUNNEY, H.; The effect of soil type on phosphorus sorption and capacity and desorption dynamics in Irish grassland soils. **Soil Use Manage**, v.17, p.12 – 20. 2001.

DASTAGER, S.G.; LEE, J-C.; JU, Y-J.; PARK, D-J.;KIM, C-J.; *Microbacterium kribbense* sp. nov., isolated from soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.58, p.2536 – 2540. 2008

DOUGLAS, M.E.; ENDLER, J.A.; Quantitative matrix comparisons in ecological and evolutionary investigations. **Journal of Theoretical Biology**, v.99, p.777 – 795, 1982.

DUNBAR, J.; SHANNON, T.; BARNS, S. M.; DAVIS, J. A.; KUSKE, C. R. Levels of bacterial community diversity in four arid soils compared by cultivation and 16S rRNA gene cloning. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, p.1662–1669, 1999.

EDENBORN, S.L.; SEXSTONE, A.J.; DGGE fingerprinting of culturable soil bacterial communities complements culture-independent analyses. **Soil Biology & Biochemistry**, v.39, p.1570 - 1579, 2007.

EICHORST, S.A.; BREZNAK, J.A.; SCHMIDT, T.M.; Isolation and characterization of soil bacteria that define *Terriglobus* gen. nov., in the phylum Acidobacteria". **Applied and Environmental Microbiology**. v.73, p.2708–2717. 2007.

FAORO, H.; **Determinação da biodiversidade de archaea e bacteria da mata atlântica paranaense**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, 172p. 2006.

FALK, S.; LIU, B.; BRAKER, G.; Isolation, genetic and functional characterization of novel soil *nirK*-type denitrifiers. **Systematic and Applied Microbiology**, v.33, p.337–347, 2010.

FIERER, N.; JACKSONN, R.B.; The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.103, p.626 – 631, 2006.

FIERER, N.; STRICKLAND, M.S.; LIPTZIN, D.; BRADFORD, M.A.; CLEVELAND, C.C.; Global patterns in belowground communities. **Ecology Letters**, v.12, p.1238 – 1249. 2009.

FRANCÉS, J.; BONATERRA, A.; MORENO, M.C.; CABREFIGA, J.; BADOSA, E.; MONTESINOS, E.; Pathogen aggressiveness and postharvest biocontrol efficiency

in *Pantoea agglomerans*. **Postharvest Biology and Technology**, v.39, p.299 – 307. 2006.

GARBEVA, P.; VEEN, J.A.; van ELSAS, J.D.; Microbial diversity in soil: Selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, p.243 - 270; 2004.

GARLAND, J.L.; MILLS, A.L.; Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community level sole carbon source utilization. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, p.2351 - 2359, 1991.

GILLASPIE, A.G.; Ratoon stunting disease. In: RICAUD, C.; EGAN, B.T.; GILLASPIE Jr, A.G.; HUGHES, C.G.; (eds) **Diseases of Sugarcane: Major diseases**. Amsterdam: Elsevier Science Publisher. p.58 – 80. 1989.

GOMES, N.C.M.; HEUER, H.; SCHONFELD, J.; COSTA, R.; MENDONÇA-HAGLER, L.; SMALLA, K.; Bacterial diversity of the rhizosphere of maize (*Zea mays*) grown in tropical soil studied by temperature gradient gel electrophoresis. **Plant & Soil**, v.232, p.167 - 180, 2001.

GOMEZ, E.; BISARO, V.; CONTI, M.; Potential C-source patterns of bacterial communities as influenced by clearing and land use in a vertic soil of Argentina. **Applied Soil Ecology**, v.15, p.273 - 281, 2000.

GOMEZ, E.; GARLAND, J.; CONTI, M.; Reproducibility in the response of soil bacterial community-level physiological profiles from a land use intensification gradient. **Applied Soil Ecology**, v.26, p.21 – 30, 2004.

GOMEZ, E.; FERRERAS, L.; TORESANI, S.; Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. **Bioresource Technology**, v.97, p.1484 - 1489, 2006.

GOTO, M.; Nomenclature of the bacteria causing bacterial leaf streak and bacterial stripe of rice, **Bulletin of the Faculty of Agriculture, Shizuoka University**. 14: 3–10, 1964.

GRAYSTON, S.J; AMPBELL, C.D; BARDGETT R.,D; MAWDSLEY, J.L; CLEGG C.,D; RITZ, K; GRIFFITHS, B.S; RODWELL, J.S; EDWARDS, S.J; DAVIES, W.J; ELSTON, D.J; MILLARD, P.; Assessing shifts in microbial community structure across a range of grasslands differing in management intensity using CLPP, PLFA and community DNA techniques. **Applied Soil Ecology**, v.25, p.63 - 84, 2004.

HAAS, D., DÉFAGO, G.; Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. **Nature Reviews Microbiology**, v.3, p.307 - 319. 2005.

HABIB, M.E.M.; ANDRADE, C.F.S.; Bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S.B.; **Controle Microbiano de Insetos**. São Paulo: FEALQ, p.383 - 446. 1998.

HAICHAR, F.Z.; MAROL, C.; BERGE, O.; RANGEL-CASTRO, J.I.; PROSSER, J.I.; BALESSENT, J.; HEULIN, T.; ACHOUAK, W.; Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure; **ISME Journal**, v.2, p.1221–1230, 2008.

HERMANSSON, A.; LINDGREN, P.; Quantification of Ammonia-Oxidizing Bacteria in Arable Soil by Real Time PCR. **Applied and Environmental Microbiology**. v.67, p.972-976, 2001.

HEUER, H.; KRSEK, M.; BAKER, P.; SMALLA, K.; WELLINGTON, E.M.H. Analysis of the actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoresis separation in denaturing gradients. **Applied & Environmental Microbiology**, v.63, p.3233 - 3241, 1997.

HEUER, H.; SMALLA, K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) for studying soil microbial communities. In: ELSAS, J.D. van; TREVORS, J.T.; WELLINGTON, E.M.H. (Ed.). **Modern soil microbiology**. New York: Marcel Dekker, p.353-373, 1997.

HIRSCH, P.; RADES-ROHKOHL, E.; Microbial diversity in a groundwater aquifer in Northern Germany. **Developments in Industrial Microbiology**. v.24, p.183–200, 1983.

HJORT, K.; LEMBKE, A.; SPEKSNIJDER, A.; SMALLA, K.; JANSSON, J.K.; Community Structure of Actively Growing Bacterial Populations in Plant Pathogen Suppressive Soil. **Microbial Ecology**, v.53, p.399 – 413; 2006.

HODGSON, D. A.; Primary metabolism and control in *Streptomyces*: a most unusual group of bacteria. **Advances in Microbial Physiology**, v.42, p.47 – 238. 2000.

HOPKINS, D.L.; THOMPSON, C.M.; Evaluation of *Citrullus* sp. Germ Plasm for resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Plant Disease**, v.86, p.61-64. 2002.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C.; **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja/Embrapa Cerrados. (Documentos/Embrapa Soja, n° 283), 80p. 2007.

IIVANAINEN, E. K., MARTIKAINEN, P. J., RÄISÄNEN, M. L.; KATILA, M. L.; *Mycobacteria* in boreal coniferous forest soils. **FEMS Microbiology Ecology**, v.23, p.325–332, 1997.

JAMIESON, W.D.; PEHL, M.P.; GREGORY, G.A.; ORWIN, P.M.; Coordinated surface activities in *Variovorax paradoxus* EPS. **BMC Microbiology**, v.9, p.124. 2009.

JONES, D.; KEDDIE R.; The Genus *Arthrobacter*. In. BALOWS, A.; TRÜPPER, H.G.; DWOREKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K-H.; **The Prokaryotes**. (ed.) Eds Springer. p.1283 – 1299. 1992.

KATO, H.; SAITO, M.; NAGAHATA, Y.; KATAYAMA, Y.; Degradation of ambient carbonyl sulfide by *Mycobacterium* spp. in soil. **Microbiology**, v.154 p.249–255, 2008.

KIRK, J.L.; BEAUDETTE, L.A.; HART, M.; MOUTOGLIS, P.; KLIRONOMOS, J.N.; LEE, H.; TREVORS, J.T.; Methods of studying soil microbial diversity. **Journal of Microbiological Methods**, v.58, p.169 - 188, 2004.

KLOOS, K.; FESEFELDT, A.; GLIESCHE, C.G.; BOTHE, H.; DNA-probing indicates the occurrence of denitrification and nitrogen fixation genes in *Hyphomicrobium*: distribution of denitrifying and nitrogen fixing isolates of *Hyphomicrobium* in a sewage treatment plant. **FEMS Microbiology Ecology**, v.18, p.205–213, 1995.

KOBAYASHI, D.Y.; REEDY, R.M.; BICK, J.; OUDEMANS, P.V.; Characterization of a chitinase gene from *Stenotrophomonas maltophilia* strain 34S1 and its involvement in biological control. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p.1047 – 1054. 2002.

KONOPKA, A.; OLIVER, L.; TURCO, R.F.; The use of substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology. **Microbial Ecology**, v.35, p.103 – 115, 1998.

LACEY, J., In: SYKES, G., SKINNER, F.A. (Eds.), **Actinomycetales: Characteristics and Practical Importance**. Academic Press, New York, pp. 231–251. 1973.

LANE, D. J.; 16S/23S rRNA sequencing. In **Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics**, pp.115-175. Edited by E. Stackebrandt & M. Goodfellow. Chichester : Wiley. 1991.

LEE, J.Y.; MOON, S.S.; YUN, B.S.; YOO, I.D.; HWANG, B.K.; Thiobutacin, a Novel Antifungal and Antioomycete Antibiotic from *Lechevalieria aerocolonigenes*. **Journal of Natural Products**, v.67, p.2076-2078. 2004.

LONG, S.R.; *Rhizobium*-legume nodulation: Life together in the underground. **Cell**, v.56, p.203 - 214. 1989.

LOVELL, C.R.; PICENO, Y.M.; QUATTRO, J.M.; BAGWELL, C.E. Molecular Analysis of diazotroph diversity in the rizosphere of the smooth cordgrass, *Spartina alterniflora*. **Applied & Environmental Microbiology**, v.66, p.3814 - 3822, 2000.

LUPWAYI, N.Z.; RICE, W.A.; CLAYTON, G.W.; Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. **Soil Biology & Biochemistry**, v.30, p,733 – 1741, 1998.

LUPWAYI, N.Z.; GRANT, C.A.; SOON, Y.K.; CLAYTON, G.W.; BITTMAN, S.; MALHIE, S.S.; ZEBARTH, B.Z.; Soil microbial community response to controlled-release urea fertilizer under zero tillage and conventional tillage. **Applied Soil Ecology**, v.45, p.254 – 261. 2010.

LUZ, W.; Evaluation of Plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.597 - 600, 2001.

McCAIG, A.E.; GRAYSTON, S.J.; PROSSER, J.I.; GLOVER, L.A. Impact of cultivation on characterisation of species composition of soil bacterial communities. **FEMS Microbiology Ecology**, v35, p.37–48, 2001.

MACHADO, P.L.O.A.; SILVA, C.A.; Soil management under no tillage systems in the tropics with special reference to Brazil. Nutrient **Cycling in Agroecosystems**, v.61, p.119 – 130, 2001.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Brock biology of microorganisms**. Caps. 15, 16 e 17. New Jersey: Prentice-Hall. p. 606-768. 1997.

MAHAFFEE, W.F.; KLOEPPER, J.W.; Temporal changes in the bacterial communities of soil, Rhizosphere and endorhiza associated with field grown cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Microbiology Ecology**, v.34, p.210 – 223, 1997.

MALBOOBI, M.A.; OWLIA, P.; BEHBAHANI, M.; SAROKHANI, E.; MORADI, S.; YAKHCHALI, B.; DELJOU, A.; HERAVI, K.M.; Solubilization of organic and inorganic phosphates by three highly efficient soil bacterial isolates. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.25, p.1471 - 1477. 2009.

MARSCHNER, P.; SOLAIMAN, Z.; RENGEL, Z. Rhizosphere properties of *Poaceae* genotypes under P-limiting conditions. **Plant and Soil**, v.283, p.11 - 24, 2006.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; MERCANTE, F.M.; REIS JUNIOR, F.B.; **Fixação biológica de nitrogênio na soja: bom para a qualidade do solo, para o bolso do agricultor e para o Brasil.** Disponível em: <http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=23030&secao=C olunas%20Assinadas>. Acesso em: 11 de Novembro de 2010.

MILLER, H.J.; HENKEN, G.; van VEEN, J.A.; Variation and composition of bacterial population in the rhizosphere of maize, wheat, and grass cultivars. **Canadian Journal of Microbiology**, v.35, p.656 - 660, 1989.

MOLLA, M.A.Z.; CHOWDHURY, A.A.; Microbial mineralization of organic phosphate in soil. **Plant and Soil**, v.78, p.393 – 399. 1984.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, F. S.; **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. Ed. atual. e ampl. – Lavras: Editora UFLA, 2006.

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

NIKOLAUSZ, M.; SIPOS, R.; RÉVÉSZ, S.; SZÉKELY, A.; MÁRIALIGETI, K.; Observation of bias associated with re-amplification of DNA isolated from denaturing gradient gels. **FEMS Microbiology Letters**, v.244, p.385-390, 2005.

NUNES, G.L.; **Diversidade e estrutura de comunidades de *Bacteria* e *Archae* em solo de mangue contaminado com hidrocarbonetos do petróleo.** Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – USP. 84p. 2006.

OGUT, M.; ER, F.; KANDEMIR, N.; Phosphate solubilization potentials of soil *Acinetobacter* strains. **Biology & Fertility of Soils**, v.46, p.707 – 715. 2010

OLIVEIRA, C.A.; MARRIEL, I.A.; GOMES, E.A.; LANA, U.G.P.; SCOTTI, M.R.; ALVES, V.M.C.; Diversidade bacteriana da rizosfera de genótipos de milho contrastantes na eficiência de uso de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.11; 1473 - 1482. 2009.

PEDRINHO, E.A.N.; **Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento em milho (*Zea mays*).** (Tese de Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 74p. 2009.

PEIXOTO, R. S.; CHAER, G. M.; FRANCO, N.; REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; ROSADO, A. S.; A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**. v.98, p.403 – 413, 2010.

PEIXOTO, R.S.; COUTINHO, H.L.C.; MADARI, B.; MACHADO, P.L.O.A.; RUMJANEK, N.G.; van ELSAS, J.D.; SELDIN, L.; ROSADO, A.S.; Soil aggregation and bacterial community structure as affected by tillage and cover cropping in the Brazilian Cerrados. **Soil & Tillage Research**, v.90, p.16 – 28. 2006.

PEREIRA, A.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; KASCHUK, G.; CHUEIRA, L.M. O.; CAMPO, R.J.; TORRES, E.; Variações qualitativas e quantitativas na microbiota do solo e na fixação biológica de nitrogênio sob diferentes manejos com soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1397 - 1412, 2007.

PEREIRA, J.C.; NEVES, M.C.P.; DROZDOWICZ, A.; **Quantificações das populações de bactérias em geral, de bactérias resistentes a antibióticos e de**

**actinomicetos em solos.** Seropédica: Embrapa - CNPAB, 20p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 26). 1996.

PERIN, A.; SANTOS, R.H.S.; URQUIAGA, S.S.; CECON, P.R.C.; GUERRA, J.G.M.; FREITA, G.B.; Sunnhemp and millet as green manure for tropical maize production. **Science Agriculture**, v.63, p.453 - 459, 2006.

POLANCZYK, R.A. **Estudos de *Bacillus thuringiensis* Berliner visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith).** (Tese de Doutorado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 145p. 2004.

PRIOR, P.; FEGAN, M.; Recent Developments in the phylogeny and classification of *Ralstonia solanacearum*. **Acta Horticulturae**, v.695, p.127 - 136, 2005.

QUAN, Z.X.; KIM, K.K.; KIM, M.K.; JIN, L.; LEE, S. T.; *Chryseobacterium caeni* sp. nov., isolated from bioreactor sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.57, p.141–145. 2007.

REDDY, G.S.N.; PRAKASH, J.S.S.; SRINIVAS, R.; MATSUMOTO, G.I.; SHIVAJI. S.; *Leifsonia rubra* sp. nov. and *Leifsonia áurea* sp. nov.; psychrophiles from a pond in Antarctica. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.53, p.977 – 984. 2003

REIS JUNIOR, F.B.; SIMON, M.F.; GROSS, E.; BODDEY, R.M.; ELLIOTT, G.N.; NETO, N.E.; LOUREIRO, M.F; QUEIROZ, L.P.; SCOTTI, M.R.; CHEN, W-M.; NORÉN, A.; RUBIO, M.C.; FARIA, S.M.; BONTEMPS, C.; GOI, S.R.; YOUNG, J.; PETER, W.; SPRENT, J.I.; JAMES, E.K.; Nodulation and nitrogen fixation by *Mimosa* spp. in the Cerrado and Caatinga biomes of Brazil. **New Phytologist**, v.186, p.934 - 946, 2010.

REZZONICO, F., ZALA, M., KEEL, C., DUFFY, B., MOËNNE-LOCCOZ, Y., DÉFAGO, G., Is the ability of biocontrol fluorescent pseudomonads to produce the antifungal metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol really synonymous with higher plant protection? **New Phytologist**, v.173, p.861 - 872. 2007.

RIBEIRO, G.H.S.; REIS JUNIOR, F. B.; ROLIM, L.; MENDES, I.C.; Atividade enzimática e diversidade metabólica em solo sob cultivo orgânico e convencional. In: Fertbio, 2006, Bonito. **Fertbio 2006 (Documentos 82/2006)**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006.

RIGGS, P. J.; CHELIUS, M.K.; INIGUEZ, A.L.; KAEPLER, S.M.; TRIPLETT, E.W.; Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria **Australian Journal of Plant Physiology**, v.28, p.829 - 836. 2001.

RODRIGUES, A.L.; PEREIRA, M.A.; JANKNECHT, P.; BRITO, A.G.; NOGUEIRA, R.; Biofilms formed on humic substances: Response to flow conditions and carbon concentrations. **Bioresource Technology**. v.101, p.6888 – 6894, 2010.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R.; Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v.17, p.319 – 339. 1999.

ROESCH, L.F.W.; PASSAGLIA, L.M.P.; BENTO, F.M.; TRIPLETT, E.W.; CAMARGO, F.A.O.; Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas associadas a plantas de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1367-1380, 2007.

ROONEY, D.C.; CLIPSON, N.J.W.; Phosphate Addition and Plant Species Alters Microbial Community Structure in Acidic Upland Grassland Soil. **Microbial Ecology**, v.57, p.4 – 13. 2009.

ROS, M.; GOBERNA, M.; PASCUAL, J.A.; KLAMMER, S.; INSAM, H.; 16S rDNA analysis reveals low microbial diversity community level physiological profile assays. **Journal of Microbiological Methods**, v.72, p.221 – 226. 2008.

SALLES, J.F.; VANVEEN, JA.; VANELSAS, J.D.; Multivariate analysis of *Burkholderia spp.* in soil: Effect of crop and land use history. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, p.4012 - 4020, 2004.

SCHAAD, N.W.; KADO, C.I.; SUMNER, D.R.; Synonymy of *Pseudomonas avenae* Manns 1905 and *Pseudomonas alboprecipitans* Rosen 1922, **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.25, p.133 – 137, 1975.

SCHLEMMER, F. **Atributos biológicos em um Latossolo Vermelho Escuro sob cerrado, pastagem, lavoura e integração lavoura-pecuária**. Monografia. (Aperfeiçoamento/Especialização em Gestão e Manejo Ambiental em Sistemas Agrícolas). Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG, 40p. 2007.

SCHÖNFELD, J.; HEUER, H.; van ELSAS, J.D.; SMALLA, K.; Specific and Sensitive Detection of *Ralstonia solanacearum* in Soil on the Basis of PCR Amplification of *fliC* Fragments. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p.7248 - 7256. 2003.

SIQUEIRA, J.; FRANCO, A.A.; **Biotechnologia do solo - fundamentos e perspectivas. Ciências agrárias nos trópicos brasileiros**. Brasília, DF: MECESAL-FAEPE-ABEAS, 235 p. 1988.

SON, H.J.; PARK, G.T.; CHA, M.S.; HEO, M.S.; Solubilization of insoluble inorganic phosphate by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. **Bioresource Technology**, v.97, p.204 – 210. 2006.

SOUSA, C.S.; SOARES, A.C.F.I.; GARRIDO, M.S.; Characterization of *Streptomyces* with potential to promote plant growth and biocontrol. **Scientia Agricola**, v.65, 50 – 55, 2008.

STEWART, F.C.; A bacterial disease of sweet corn, **New York State Agricultural Experiment Station**, v.130, p.422 – 439. 1987.

TIMMUSK, S., NICANDER, B., GRANHALL, U.; TILLBERG, E.; Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. **Soil Biology & Biochemistry**, v.31, p.1847–1852. 1999.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V.H; SCHAEFER, C.E.G.R;

BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (eds) **Tópicos em Ciência do Solo, Vol. 2**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.195-276 . 2002.

van ELSAS, J.D., GARBEVA, P., SALLES, J.; Effects of agronomical measures on the microbial diversity of soils as related to the suppression of soil-borne plant pathogens. **Biodegradation**, v.13, p.29 – 40. 2002.

WATKINSON, A.R.; The role of the soil community in plant population dynamics. **Tree**, v.13, p.171-172. 1998.

WATTS, S.F.; The mass budgets of carbonyl sulfide, dimethyl sulfide, carbon disulfide and hydrogen sulfide. **Atmospheric Environment**, v.34, p.761 – 779, 2000.

WILLEMS, A.; GOOR, M.; THIELEMANS, S.; GILLIS, M.; KERSTERS, K.; DE LEY, J.; Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov. comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci*, **International Journal of Systematic Bacteriology**. v.42, p.107–119, 1992.

WINTZINGERODE, F.; GÖBEL, U. B.; STACKEBRANDT, E. Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of PCR-based rRNA analysis. **FEMS Microbiology Reviews**, v.21, p.213 - 229, 1997.

XAVIER, F.A.S.; MAIA, S.M.F.; OLIVEIRA, T.S.; MENDONÇA, E.S.; Biomassa microbiana e matéria orgânica leve em solos sob sistemas agrícolas orgânico e convencional na Chapada da Ibiapaba – CE. **Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas**, v.30, p.247 - 258, 2006.

YOUNG, J.P.W.; HAUKKA, K.E. Diversity and phylogeny of rhizobia. **New Phytologist**. v.133, p.87 - 94. 1996.

ZAK, J.C.; WILLIG, M.R.; MORRHEAD, D.L. WILDMAN, H.G. Functional diversity o microbial communities: a quantitative approach. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1101-1108, 1994.

ZAKHIA, F.; JEDER, H.; WILLEMS, A.; GILLIS, M.; DREYFUS, B.; de LAJUDIE, P.; Diverse bacteria associated with root nodules of spontaneous legumes in Tunisia and first report for nifH-like gene within the genera *Microbacterium* and *Starkeya*. **Microbial Ecology**. v.51, p.375–393, 2006.

ZHANG, H.; SEKIGUCHI, Y.; HANADA, S.; HUGENHOLTZ, P.; KIM, H.; KAMAGATA, Y.; NAKAMURA, K.; *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating micro-organism, the first cultured representative of the new bacterial phylum *Gemmatimonadetes* phyl. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.53, p.1155-63. 2003.

ZHOU, Y.; DONG, J.; WANG, X.; HUANG, X.; ZHANG, K-Y.; ZHANG, Y-Q.; GUO, Y-F.; LAI, R.; LI, W-J.; *Chryseobacterium flavum* sp. nov., isolated from polluted soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.57, v.1765 – 1769. 2007.

**CAPÍTULO 3**  
**QUALIDADE DE SOLOS DE CERRADO, SOB PLANTIO DIRETO E PREPARO  
CONVENCIONAL, AVALIADAS A PARTIR DE ATRIBUTOS QUÍMICOS, FÍSICOS  
E BIOLÓGICOS, COM AUXÍLIO DO SOFTWARE SIMOQS**

## RESUMO

A crescente preocupação com os recursos naturais torna cada vez maior a busca por práticas agrícolas de menor impacto ambiental, e o componente solo não pode ser desprezado. Os diferentes tipos de manejo do solo promovem alterações em suas propriedades químicas, físicas e biológicas, características que podem ser utilizadas para se quantificar a qualidade do solo. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade do solo com o auxílio do software SIMOQS, utilizando-se atributos de natureza química, física e biológica, em áreas sob PD e PC. Os índices de qualidade dos solos foram calculados com o auxílio do SIMOQS, a partir de amostras coletadas na profundidade de 0-10 cm em um Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com milho e soja, sob PD e PC, e em um Latossolo Vermelho cultivado com milho e soja, sob PD e PC e adubado com duas fontes de fósforo, superfosfato triplo e fosfato natural reativo. Áreas de cerrado nativo, adjacentes aos experimentos, foram utilizadas como referência das condições originais dos solos. Foram criados três modelos para o cálculo de qualidade dos solos, um baseado em características ditas ideais para culturas anuais e outros dois com base nas características originais de solos de Cerrado das duas áreas estudadas. Nos três modelos propostos neste estudo, as áreas cultivadas sob PD apresentaram os maiores índices de qualidade dos solos.

**Termos de indexação:** Manejo do solo, química do solo, física do solo, biologia do solo, qualidade do solo, SIMOQS.

## ABSTRACT

Growing concern about natural resources impose increasingly searches for agricultural practices with less environmental impact and the soil component can not be neglected. Different types of soil tillage promote changes in its chemical, physical and biological parameters that can be used to quantify soil quality. This study aimed to assess soil quality with the help of SIMOQS software, using chemical, physical and biological parameters measured in areas under no-tillage (NT) and conventional tillage (CT). The soil quality index were calculated with the use of SIMOQS, from samples collected at a depth of 0-10 cm in a clayey Typic Haplustox planted with corn and soybean under CT and NT systems and in an Oxisol planted with corn and soybean under NT and CT fertilized with two phosphate sources, triple superphosphate and reactive phosphate rock. Areas of native vegetation, adjacent to the experiments, were used as reference to the original conditions of the soil. Tree models to calculate soil quality were created, one based on so-called ideal characteristics for annual crops and the other two based on the original characteristics of Cerrado soils under each experiment. In the tree models proposed in this study, the areas cultivated under NT presented higher rates of soil quality

**Index terms:** Soil management, soil chemistry, soil physics, soil biology, soil quality, SIMOQS.

## 1. INTRODUÇÃO

O uso intensivo e inadequado do solo pode resultar em diminuição de sua qualidade, com consequências ambientais, sociais e econômicas, assim, é necessário concentrar esforços na gestão dos recursos do solo, visando garantir o seu uso racional, com vistas a satisfazer as necessidades atuais e das gerações futuras. Para isso, é necessário estabelecer estratégia de uso do solo que respeite sua capacidade de oferta de recursos, manejando-o de modo a manter ou melhorar sua qualidade (Goedert e Oliveira, 2007).

De acordo com Costa et al. (2006), quantificar a qualidade do solo (QS) não é tarefa fácil, e tal dificuldade advém do fato de que a QS depende de suas propriedades intrínsecas, de suas interações com o ecossistema e, ainda, de prioridades de uso, influenciadas inclusive, por aspectos socioeconômicos e políticos. A QS pode ser mensurada através do uso de indicadores, que são atributos que medem ou refletem o status ambiental ou a condição de sustentabilidade do ecossistema (Araújo e Monteiro, 2007). Diversos trabalhos têm utilizado atributos químicos, físicos e biológicos como indicadores da qualidade do solo (Doran e Parkin, 1994; Chaer, 2001; Conceição et al., 2005; Costa et al., 2006; Amado et al., 2007; Araújo et al., 2007; Silva, 2008), sendo que estes atributos têm sido utilizados em modelos matemáticos diversos (Karlen e Stott, 1994; Tótola e Chaer, 2002).

Diante da importante necessidade de se avaliar a QS, torna-se interessante a aplicação de ferramentas como o SIMOQS, software que permite a construção de modelos matemáticos diversos para o seu cálculo, utilizando, para isso, um conjunto de dados obtidos a partir das análises de suas características químicas, físicas e biológicas (Chaer et al., 2004; Silva, 2008).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade do solo com o auxílio do SIMOQS, utilizando-se atributos de natureza química, física e biológica, em áreas sob PD e PC.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

A descrição das áreas de estudo, a maneira com que as amostras foram coletadas e as metodologias das análises utilizadas nesta seção foram relatadas no Capítulo 1.

### **2.1. Índice de qualidade dos solos**

Com o intuito de se determinar um índice que possa ser capaz de avaliar a qualidade dos solos estudados, os dados obtidos nesse estudo foram inseridos no programa SIMOQS (Sistema de Monitoramento da Qualidade do Solo) desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa. O SIMOQS (Chaer et al., 2004) permite a construção de modelos para o cálculo de índices de qualidade do solo (IQS), oferecendo recursos para adequar os modelos aos dados disponíveis.

No programa, cada modelo é estruturado na forma de uma árvore (Chaer et al., 2004). A figura 1 exibe um exemplo, com o primeiro nível de particularidade referente às funções (esquerda) e o detalhamento dos níveis do mesmo modelo (direita). Cada nó do modelo tem seu próprio peso. Os nós intermediários são as funções e os outros nós são os indicadores, que podem ser divididos em níveis.

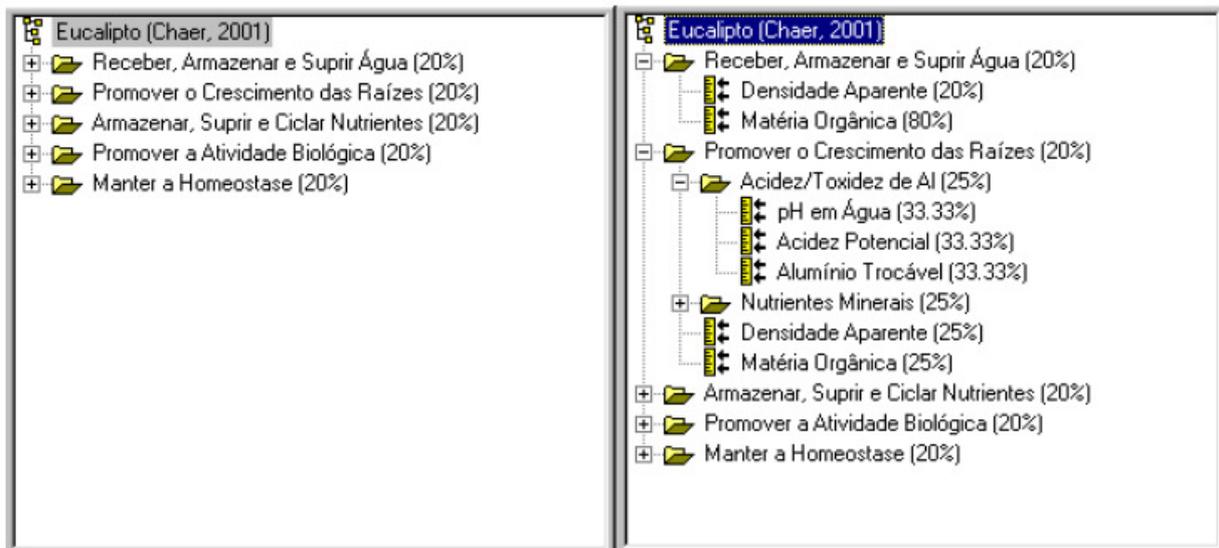


Figura 1: Exemplo da estrutura de um modelo no SIMOQS. À esquerda, observa-se o primeiro nível de detalhamento de um modelo, que apresenta as funções do solo e seus respectivos pesos. À direita é possível visualizar o detalhamento de cada função, com suas estratificações (níveis) e pesos adotados (adaptado de Silva, 2008).

Um mesmo indicador pode aparecer mais de uma vez em diferentes funções, pois os atributos do solo estão inter-relacionados, tornando necessárias estas repetições para representar melhor cada função no modelo.

No presente trabalho, foram desenvolvidos três modelos para se determinar o IQS, sendo um referente a uma área dita “ideal” para culturas anuais, outro tendo como referência a área sob cerrado nativo do Latossolo Vermelho Amarelo e o último levando em consideração o solo sob cerrado nativo do Latossolo Vermelho.

Para o modelo “culturas anuais” (Figura 3), utilizou-se a estrutura determinada por Silva (2008), onde os atributos biológicos, físicos e químicos foram relacionados com quatro funções do solo: 1) receber, armazenar e suprir água; 2) armazenar, suprir e ciclar nutrientes; 3) promover o crescimento das raízes; e 4) promover a atividade biológica. Considerou-se que cada função tem a mesma importância, ou seja, o mesmo peso numérico dentro do modelo, igual a 25%.

Os modelos que tiveram como referência as características dos solos das áreas nativas (Figura 2) foram baseados no modelo “cultura anuais”, sendo que os atributos químicos foram retirados (exceto a matéria orgânica), já que os solos de

Cerrado apresentam, naturalmente, baixa concentração de nutrientes, baixo pH e elevada concentração de alumínio e todos esses atributos podem ser alterados pela calagem e adubação. Para os dois experimentos foi utilizada a mesma estrutura de modelo, diferenciando-se apenas os valores de referência. Nestes modelos, as funções 3 e 4 foram agrupadas, pois após a eliminação dos atributos químicos, as duas funções ficaram com os mesmo atributos.

Os valores dos pesos atribuídos aos indicadores dentro das funções basearam-se não só em referências da literatura e trabalhos científicos, mas também na opinião de especialistas das áreas de química, física e microbiologia do solo.

As informações referentes ao tipo de curva, limites inferior e superior, linhas base inferior e superior, valor ótimo e as respectivas referências são apresentadas na tabela 1.

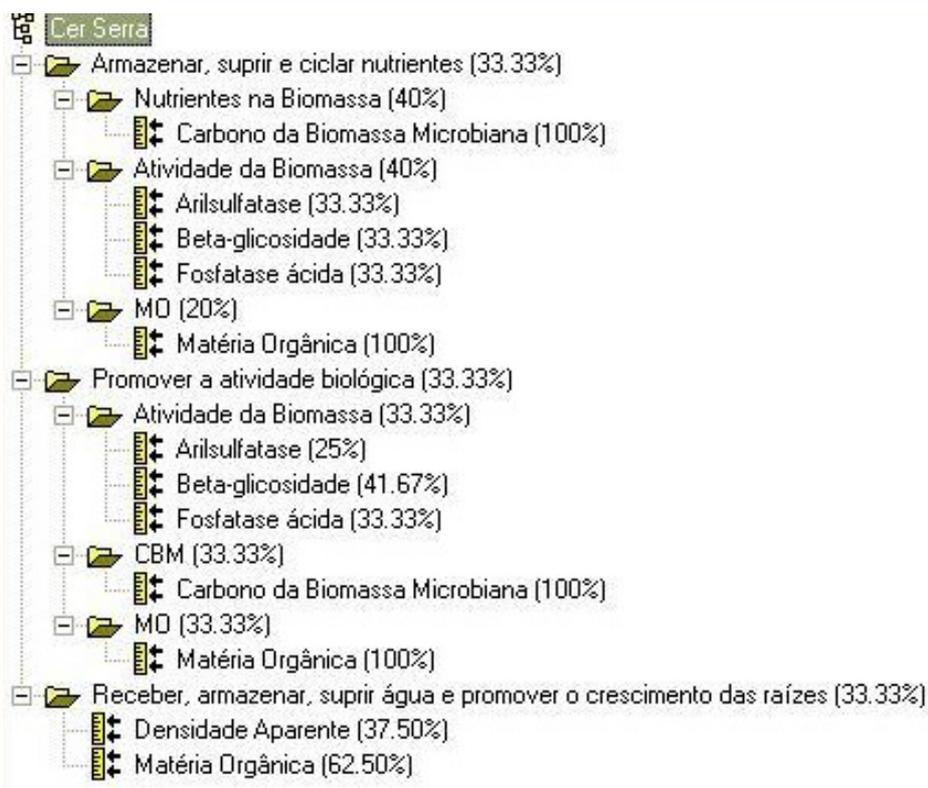


Figura 2: Estrutura de modelo e pesos numéricos associados aos indicadores e às funções do solo para determinação do IQS referente aos modelos que têm o Cerrado como referência.

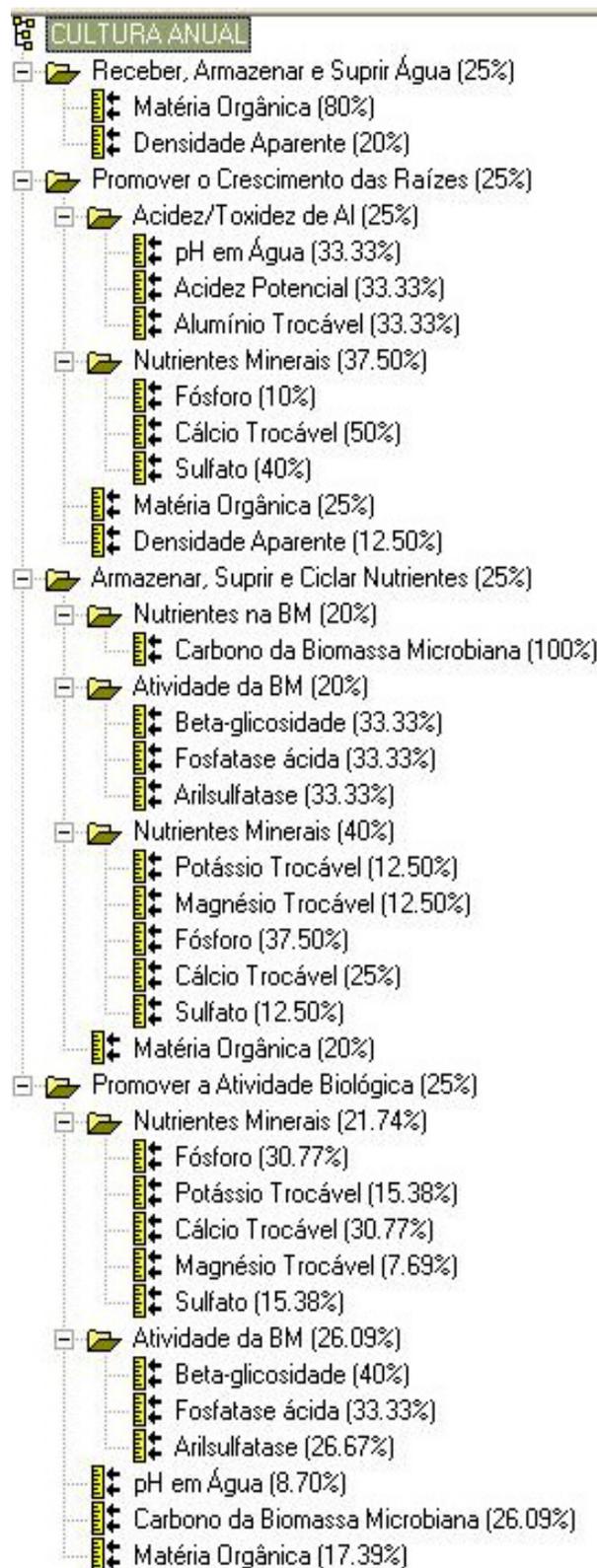


Figura 3: Estrutura de modelo e pesos numéricos associados aos indicadores e às funções do solo para determinação do índice de qualidade do solo (IQS) referente ao modelo “culturas anuais”.

Tabela 1: Parâmetros das funções de pontuação dos índices de qualidade do solo (IQS) (LBI = Limite base inferior, LBS = Limite base superior). “Valor atual” corresponde ao menor e (ou) maior valor encontrado nas áreas do atual trabalho.

Atributos	Tipo de curva	Limite Inf.	Limite Sup.	LBI	LBS	Otimo	Referência
<b>Modelo Culturas Anuais</b>							
Matéria orgânica	Mais é melhor	2,4	4,5	3,45	-	-	Sousa e Lobato, 2004
Densidade aparente	Menos é melhor	0,8	1,2	1	-	-	Silva, 2008
pH em água	Ótimo	5,2	6,3	5,75	6,15	6	Sousa e Lobato, 2004
Acidez potencial	Menos é melhor	2	5	3,5	-	-	Sousa e Lobato, 2004
Alumínio trocável	Menos é melhor	2	5	3,5	-	-	Sousa e Lobato, 2004
Fósforo	Mais é melhor	3,1	12	7,55	-	-	Sousa e Lobato, 2004
Cálcio	Mais é melhor	1,5	5	3,25	-	-	Sousa e Lobato, 2004
Sulfato	Mais é melhor	5	10	7,5	-	-	Sousa e Lobato, 2004
CBM	Mais é melhor	46	906	476	-	-	Inf. Kaschuk 2010; Sup. Valor atual
Beta glicosidase	Mais é melhor	24	325	174,5	-	-	Inf. Valor atual; Sup. Silva, 2008
Fosfatase ácida	Mais é melhor	301	1904	1102,5	-	-	Silva, 2008
Arilsulfatase	Mais é melhor	32	176	104	-	-	Inf. Silva, 2008; Sup. Valor atual
Potássio	Mais é melhor	0,06	0,2	0,13	-	-	Sousa e Lobato, 2004
Magnésio	Mais é melhor	0,5	1,5	1	-	-	Sousa e Lobato, 2004
<b>Modelo Cerrado Latossolo Vermelho Amarelo</b>							
Matéria orgânica	Mais é melhor	0	33,1	16,5	-	-	Valor atual
Densidade aparente	Menos é melhor	0,9	1,9	1,4	-	-	Inf. Silva, 2008; Sup. Valor atual
CBM	Mais é melhor	0	906,37	453,185	-	-	Valor atual
Beta glicosidase	Mais é melhor	0	70,64	35,32	-	-	Valor atual
Fosfatase ácida	Mais é melhor	0	1180,19	590,095	-	-	Valor atual
Arilsulfatase	Mais é melhor	0	94,04	47,02	-	-	Valor atual
<b>Modelo Cerrado Latossolo Vermelho</b>							
Matéria orgânica	Mais é melhor	0	33,2	16,6	-	-	Valor atual
Densidade aparente	Menos é melhor	0,9	0,9	0,45	-	-	Inf. Silva, 2008; Sup. Valor atual
CBM	Mais é melhor	0	604,23	302,115	-	-	Valor atual
Beta glicosidase	Mais é melhor	0	66,96	33,48	-	-	Valor atual
Fosfatase ácida	Mais é melhor	0	1326,28	663,14	-	-	Valor atual
Arilsulfatase	Mais é melhor	0	76,6	38,3	-	-	Valor atual

## 2.2. Tratamento dos dados e análises estatísticas

Para as avaliações estatísticas dos resultados obtidos a partir do SIMOQS, foi utilizado o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + B_j + S_i + \text{Erro}_{ij} + F_k + (SD)_{ik} + \text{Erro}_{ijk},$$

onde:  $\mu$  = média geral dos dados; B = bloco/repetição ( $j = 1,2,3$ ); S = Sistema de manejo ( $i = 1,2$ ); F = Fonte de fósforo/Cultura ( $k = 1,2$ ); Erro = erro experimental.

A análise de variância foi feita considerando o modelo misto de máxima verossimilhança restrita via PROC MIXED do SAS 9.1 e quando esta apontou significância o teste de hipótese de Student (t) ( $p < 0,05$ ) foi utilizado para distinção das médias.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizando o modelo para culturas anuais adaptado de Silva (2008) (Figura 3), e tendo como referência os parâmetros considerados como “ideais”, (Tabela 1), observa-se que no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo (Figura 4), em 2008, as áreas sob PD apresentaram, em média, IQS 43% maior que aquelas sob PC, e em 2009, 120%. Não foram observadas diferenças significativas entre as áreas cultivadas com milho e soja, sob um mesmo manejo, nos dois anos avaliados. Nas áreas sob PD, além dos maiores índices de qualidade do solo, observou-se, também, menores flutuações de um ano para o outro, quando comparado às áreas sob PC. Silva (2008), avaliando a qualidade do solo nesta mesma área, também encontrou maior IQS nas áreas sob PD que aquelas sob PC, justificando que o menor revolvimento do solo no PD resulta em maior acúmulo de resíduos orgânicos e nutrientes na sua camada superficial, favorecendo a melhoria nos atributos biológicos, os quais podem ser verificados através de aumentos no carbono da biomassa microbiana e nos níveis de atividade enzimática. O mesmo é observado neste trabalho (Tabelas 13 e 14 do capítulo 1) onde, de maneira geral, esses valores também foram maiores nas áreas sob PD em comparação aquelas sob PC, além disso, melhorias nos atributos físicos e químicos, principalmente na MO, que tem um peso relativamente alto no modelo, também contribuíram para que os solos sob PD apresentassem IQS maior que aqueles sob PC.

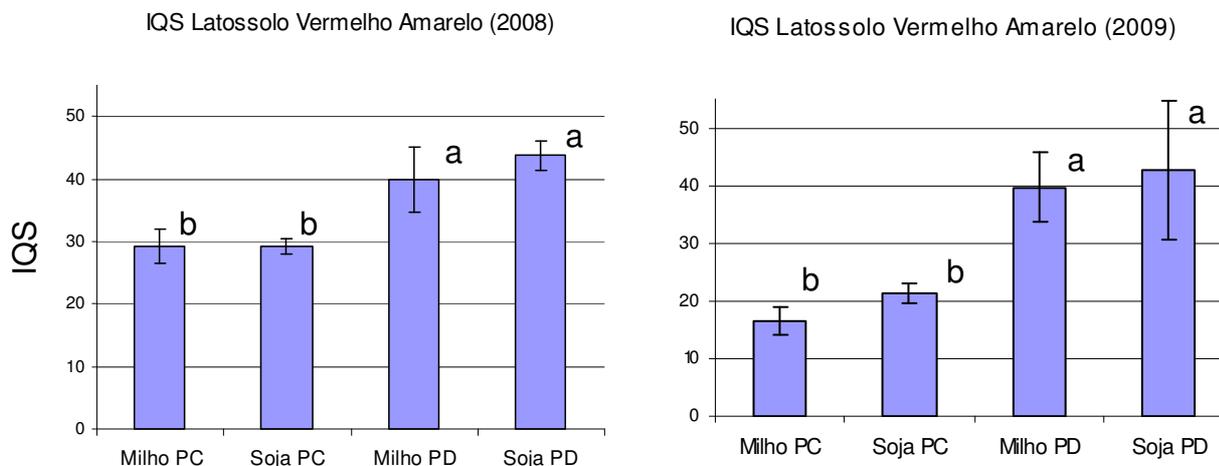


Figura 4: Índices de qualidade do solo (IQS) calculados com o SIMOQS para as áreas sob Latossolo Vermelho Amarelo, cultivadas em 2008 (esquerda) e 2009 (direita), com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), obtidos partir do modelo “culturas anuais” (Figura 3) e tendo como referência valores para áreas agrícolas (Tabela 1). Barra de erros composta pela média dos tratamentos + ou – o desvio padrão. Tratamentos seguidos pelas mesmas letras, em cada ano, não diferiram entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ).

Ainda utilizando o modelo para culturas anuais e os parâmetros de referência para estas áreas, (Figura 3; Tabela 1), assim como no experimento sob Latossolo Vermelho Amarelo, os solos sob PD do ensaio sob Latossolo Vermelho (Figura 5) também apresentaram os maiores IQS, nos dois anos avaliados. Em 2009, observa-se que as áreas sob PD apresentaram, em média, IQS 87% superior aquelas sob PC, e em 2010, 143%. Não foram observadas diferenças significativas entre os solos adubados com FNR ou ST, seja sob PD ou PC. Amado et al. (2007), utilizando um kit elaborado pelo Instituto de Qualidade do Solo, vinculado ao Serviço de Pesquisa Agrícola do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, também encontraram os mais altos níveis de qualidade do solo nas áreas sob PD, destacando o aporte de elevadas quantidades de C e N via resíduos culturais.

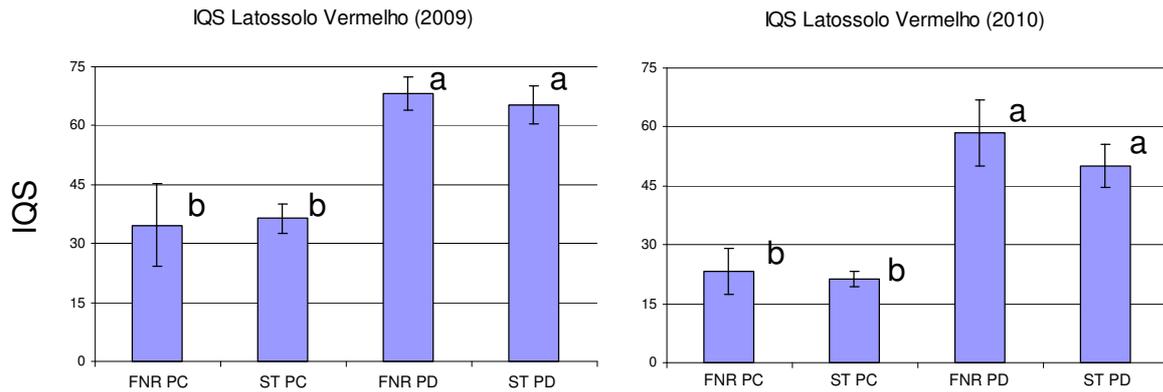


Figura 5: Índice de qualidade do solo (IQS) calculados com o SIMOQS para as áreas sob Latosolo Vermelho, adubadas com superfosfato triplo (ST) e fosfato natural reativo (FNR), cultivadas em 2009 com milho (esquerda) e 2010 com soja (direita), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), obtidos partir do modelo “culturas anuais” (Figura 3) e tendo como referência os valores para áreas agrícolas (Tabela 1). Barra de erros composta pela média dos tratamentos + ou – o desvio padrão. Tratamentos seguidos pelas mesmas letras, em cada ano, não diferiram entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ).

Conceição et al. (2005) propuseram um sistema de organização teórico para a ordenação da qualidade do solo, onde o nível mais baixo corresponde a um solo descoberto e o nível mais alto a um solo sob PD e com alta adição de resíduos (Figura 6). Tal sistema corrobora os resultados encontrados neste trabalho, já que as áreas sob PD também foram aquelas de maior IQS.

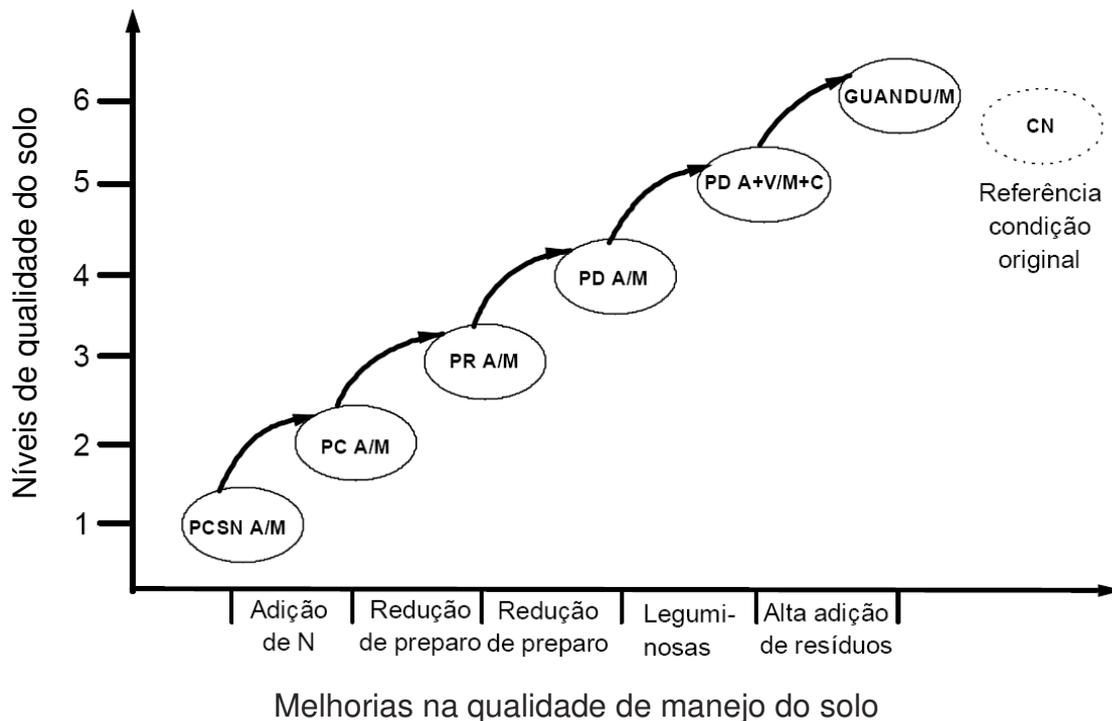


Figura 6: Sistema de organização teórico proposto por Conceição et al. (2005), para a ordenação da qualidade do solo. SN = sem adubação nitrogenada; PC = Preparo convencional; PD = Plantio direto; A = aveia preta; M = milho; V = vicia; C = caupi e CN =campo natural.

Utilizando o modelo “Cerrado” (Figura 2), e levando em consideração os parâmetros obtidos para a área sob Latossolo Vermelho Amarelo (Tabela 1), tanto em 2008 quanto em 2009, observa-se que as áreas manejadas com PD apresentaram os maiores valores de IQS (Figura 7), independente da cultura utilizada. Isso significa dizer que estas áreas, segundo o modelo proposto, foram as que apresentaram características mais próximas da área natural, ou seja, o PD teve menor impacto que o PC quando se leva em consideração as condições originais do solo. Não foram observadas diferenças significativas entre as culturas, milho e soja. Coutinho et al. (2002), avaliando o impacto do manejo do solo sobre a diversidade microbiana, também utilizaram uma área nativa de Cerrado como referência, e encontraram que os solos manejados com PD foram os que apresentaram maior similaridade com a área nativa, assim como em nosso trabalho.

No Sul do Brasil, estudos referentes ao assunto, elaborados por Amado et al. (1998) e Reinert et al. (1998), encontraram, assim como em nosso trabalho, que o sistema de preparo convencional teve como consequência a redução de sua qualidade, quando comparados ao campo natural. O maior IQS nos solos sob PD é o reflexo do melhor desempenho que estas áreas apresentaram em grande parte dos atributos mensurados.

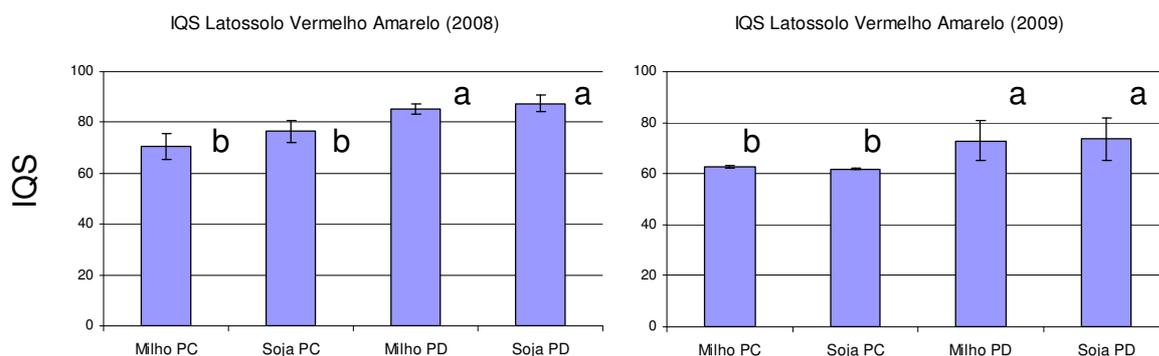


Figura 7: Índice de qualidade do solo (IQS) calculados com o SIMOQS para as áreas sob Latosolo Vermelho Amarelo, cultivadas em 2008 (esquerda) e 2009 (direita), com milho e soja, sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), obtidos partir do modelo “Cerrado” (Figura 2) e tendo como referência os valores da área nativa deste solo (Tabela 1). Barra de erros composta pela média dos tratamentos + ou – o desvio padrão. Tratamentos seguidos pelas mesmas letras, em cada ano, não diferiram entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ).

Interessante notar que, no experimento sob Latosolo Vermelho, utilizando o modelo “Cerrado” (Figura 2; Tabela 1), observa-se que os IQS destes solos (Figura 8) foram geralmente mais altos que aqueles encontrados no experimento anterior, ou seja, as práticas agrícolas utilizadas neste experimento tiveram menor impacto sobre o solo que o observado no ensaio sob Latossolos Vermelho Amarelo. Isso pode ter acontecido pelo manejo diferenciado nesta área, onde a utilização de plantas de cobertura e a irrigação complementar promovem melhorias em vários atributos do solo, vale ressaltar que por causa disso, as diferenças entre PD e PC, neste experimento, foram menores que as observadas no ensaio anterior. Outros

fatores que não podem ser desprezados são as características intrínsecas de cada solo, já que estes pertencem a classes diferentes e também podem estar sujeitos a diferentes condições climáticas, apesar de sua relativa proximidade.

Costa et al. (2006), avaliando a qualidade de um Latossolo Vermelho submetido a sistemas de cultivo em rotação milho/soja, com PD e PC, por oito e dez anos, não observaram diferenças entre a qualidade dos solos cultivados sob PD e PC, ressaltando, porém, que o uso do solo sob vegetação de cerrado para a produção agrícola, independentemente do sistema de cultivo, resulta em modificações nos atributos de qualidade do solo. Os autores utilizaram modelos gráficos, do tipo radial, em que cada atributo é locado em um dos seus raios. Eles definiram valores referenciais para cada atributo, e em seguida, calcularam o quociente entre o valor obtido pela análise e o valor referencial.

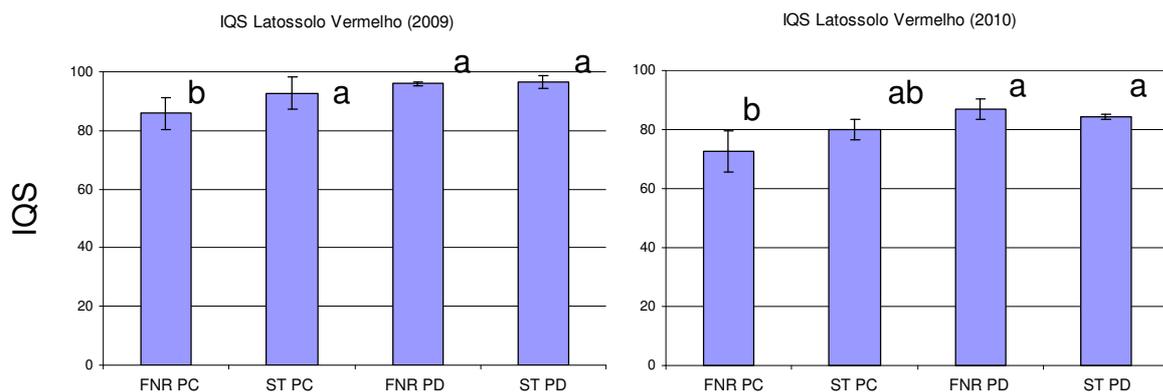


Figura 8: Índice de qualidade do solo (IQS) calculados com o SIMOQS para as áreas sob Latossolo Vermelho, adubadas com superfosfato triplo (ST) e fosfato natural reativo (FNR), cultivadas em 2009 com milho (esquerda) e 2010 com soja (direita), sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), obtidos a partir do modelo “Cerrado” (Figura 2) e tendo como referência os valores da área nativa deste solo (Tabela 1). Barra de erros composta pela média dos tratamentos + ou – o desvio padrão. Tratamentos seguidos pelas mesmas letras, em cada ano, não diferiram entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ).

De acordo com Doran e Parkin (1994) e Mielniczuk (1999), a matéria orgânica apresenta potencial para ser utilizada como atributo-chave da qualidade do solo, pois, conforme destacado por Gregorich et al. (1994), além de ser sensível a

modificações pelo manejo do solo, é ainda fonte primária de nutrientes às plantas, influenciando a infiltração, retenção de água e susceptibilidade à erosão. Ela também atua sobre outros atributos, tais como: ciclagem de nutrientes, complexação de elementos tóxicos e estruturação do solo (Conceição et al., 2005). Solos tropicais, intensamente intemperizados, apresentam como uma de suas principais características químicas a baixa CTC. Nesses solos, o teor de matéria orgânica tem importância preponderante na CTC efetiva (Bayer e Mielniczuk, 1999). Foi por estes motivos que a matéria orgânica recebeu os maiores pesos nos modelos apresentados, sendo responsável por 35,6 e 34,17% do IQS nos modelos “Cultura anual” e “Cerrado”, respectivamente. Como se pode observar nas tabelas 1, 2, 5 e 6 do capítulo 1, as áreas sob PD apresentaram maiores níveis de matéria orgânica que aqueles sob PC, contribuindo, assim, com boa parte de seu IQS superior.

De acordo com Silva (2008), o IQS é uma ferramenta que permite avaliar o efeito de diferentes formas de manejo do solo integrando um conjunto mínimo de atributos químicos, físicos e biológicos. À medida que houver um consenso sobre quais os atributos deverão fazer parte desse conjunto mínimo de dados, da padronização das metodologias utilizadas na sua determinação e dos procedimentos para coleta e armazenamento das amostras de solo, será possível desenvolver e gerar valores numéricos que quantifiquem a qualidade do solo e que sejam eficientes não só para comparar diferentes sistemas de manejo, mas também para monitorá-los ao longo do tempo. Igualmente importante nesse processo será a condução de estudos que permitam um melhor ajuste dos modelos de referência, bem como dos pesos e valores de cada indicador nesses modelos.

O SIMOQS demonstrou ser um programa extremamente flexível, permitindo a criação de modelos que se adequam aos atributos selecionados e dando maior flexibilidade à avaliação dos índices de qualidade dos solos (IQS), assim, apesar da subjetividade e das limitações do método utilizado, os resultados obtidos mostram que o SIMOQS foi eficaz como ferramenta para o monitoramento da qualidade do solo, sendo um instrumento de fácil manuseio, rápido e sensível às modificações induzidas pelos sistemas de manejo.

#### 4. CONCLUSÕES

- De acordo com os modelos utilizados, áreas sob plantio direto apresentam maiores índices de qualidade do solo que áreas sob preparo convencional.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMADO, T.J.C.; CONCEIÇÃO, P.C.; BAYER, C.; ELTZ, F.L.F.; Qualidade do solo avaliada pelo “soil quality kit test” em dois experimentos de longa duração no rio grande do sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.109 - 121, 2007.

AMADO, T.J.C.; REINERT, D.J.; GRAPEGIA JÚNIOR, G.; PONTELLI, C.B.; ESPÍNDOLA, M.C.G.; PEDRUZZI, C. **Qualidade de solos derivados de Areias Quartzosas da fronteira Sudoeste do RS: indicadores químicos**. In: Reunião sul-brasileira de ciência do solo, 2. Anais. Santa Maria, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p.275-278, 1998.

ARAÚJO, R.; GOEDERT, W.J.; LACERDA, M.P.C.; Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31 p.1099 - 1108, 2007.

ARAÚJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R.; Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v.23, p.66 - 75, 2007.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O.; eds. **Fundamentos da matéria orgânica do solo. Ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre, Genesis, p.9-26, 1999.

CHAER, G.M. **Modelo para determinação de índice de qualidade do solo baseado em indicadores físicos, químicos e microbiológicos**. (Dissertação Mestrado) Departamento de Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, 90p. 2001.

CHAER, G.M.; TÓTOLA, M.R.; LOBATO, M.C.C.; Di LORIO, V.O.; SIMOQS – Sistema de Monitoramento da Qualidade do Solo. **Manual do Usuário**. Versão 1.0 – 2004.

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**, v.29, p.777 - 788, 2005.

COSTA, E.A.; GOEDERT, W.J.; SOUSA, D.M.G.; Qualidade de solo submetido a sistemas de cultivo com preparo convencional e plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.1185-1191, 2006.

COUTINHO, H.L.; FERNANDES, I.S.; ABOIM, M.R.; PEIXOTO, R.S.; ROSADO, A.S.; MACHADO, P.L.O.A.; MADARI, B.; ANDRADE, A.G.; BENITES, V.M.; SILVA, C.A.; LIMA, J.A.; GUIMARÃES, C.. **Índice de impacto à diversidade microbiana (IDM), um novo indicador biológico para avaliação da qualidade do solo**. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas (FERTBIO 2002), 2002, Rio de Janeiro. Fertbio 2002 - Agricultura: bases ecológicas para o desenvolvimento social e econômico sustentado. Viçosa : SBPC, 2002.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., ed. Defining soil quality for a sustainable environment. **Soil Science Society of America**, p.107-124, 1994.

GOEDERT, W.J.; OLIVEIRA, S.A.; XVIII – Fertilidade do solo e sustentabilidade da atividade agrícola. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; (eds.) **Fertilidade do solo**. SBCS Viçosa, p.991 – 1017, 2007.

GREGORICH, E.G.; CARTER, M.R.; ANGERS, D.A.; MONREAL, C.M.; ELLERT, B.H.; Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. **Canadian Journal of Soil Science**, 367-375, 1994.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M.; Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology & Biochemistry**; 42: 1–13. 2010.

KARLEN, D.L.; STOTT, D.E.; A framework for evaluating physical and chemical indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A.; (eds) **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison, Soil Science Society of American, p.53-72, 1994.

MIELNICZUK, J. Matéria orgânica e a sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O.; eds. **Fundamentos da matéria orgânica do solo. Ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre, Genesis, p.1-8, 1999.

REINERT, D.J.; AMADO, T.J.C.; REICHERT, J.M.; FONTINELLI, F. **Qualidade de solos derivados de Areias Quartzosas da fronteira sudoeste do RS: indicadores físicos**. In: Reunião sul-brasileira de ciência do solo, 2. Anais. Santa Maria, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p.34-38, 1998.

SILVA, L.G.; **Uso e monitoramento de indicadores microbiológicos para avaliação da qualidade dos solos de cerrado sob diferentes agroecossistemas**. (Dissertação de Mestrado) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 137p. 2008.

SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E.; (ed.) **Cerrado: correção do solo e adubação**. Planaltina, DF. Embrapa Cerrados, 2004. 416p.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M.; Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ V, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M.; (eds) **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. v.2. p.196-276, 2002.