



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ANDRÉA SCARAMAL DA SILVA

**ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICOS DE UM
LATOSSOLO SOB INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA NO
ARENITO CAIUÁ**

Londrina
2017

ANDRÉA SCARAMAL DA SILVA

**ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICOS DE UM
LATOSSOLO SOB INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA NO
ARENITO CAIUÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Curso de Doutorado da Universidade Estadual de Londrina, área de concentração: Manejo Sustentável do Solo e Engenharia Agrícola, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maria de Fátima Guimarães.

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

da Silva, Andréa Scaramal.

ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICOS DE UM LATOSSOLO SOB INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA NO ARENITO CAIUÁ / Andréa Scaramal da Silva. - Londrina, 2017.

116 f. : il.

Orientador: Maria de Fátima Guimarães.

Coorientador: Arnaldo Colozzi Filho.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2017.

Inclui bibliografia.

1. atributos biológicos, atributos físicos, estrutura e diversidade microbiana, qualidade do solo. - Tese. I. Guimarães, Maria de Fátima. II. Colozzi Filho, Arnaldo. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

ANDRÉA SCARAMAL DA SILVA

**ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICOS DE UM LATOSSOLO
SOB INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA NO ARENITO CAIUÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Curso de Doutorado da Universidade Estadual de Londrina, área de concentração: Manejo Sustentável do Solo e Engenharia Agrícola, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof.ª Dra. Maria de Fátima Guimarães
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dra. Adriana Pereira da Silva
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dra. Graziela Moraes de Cesare Barbosa
Instituto Agrônômico do Paraná - IAPAR

Dr. Henrique Debiasi
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -
Embrapa

Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 24 de Fevereiro de 2017.

À minha família,
Alexandre, Ana Luiza,
Stella e Rosalice
pela imensa
compreensão e
carinho
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Londrina e ao curso de Pós-graduação em Agronomia, pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Instituto Agrônomo do Paraná, IAPAR, pela estrutura oferecida para a realização do trabalho de pesquisa.

Aos professores do curso de Pós-graduação em Agronomia que participaram da minha formação profissional e pelas disciplinas ministradas durante o curso de pós-graduação.

A minha orientadora prof^a. Dra. Maria de Fátima Guimarães e ao co-orientador pesquisador Dr. Arnaldo Colozzi Filho pela disponibilidade, apoio, orientação, incentivo e paciência durante o desenvolvimento e finalização deste trabalho.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

Agradeço muito pela colaboração, análises, incentivo e momentos de descontração a Gabriela Machineski, Maria Ap^a. de Matos, Gisele Milani, Breynner Pavão, Eder Bugatti e Gabriel Esteves.

Agradeço aos funcionários, colaboradores e estagiários do Laboratório de Microbiologia do Solo-IAPAR, Laboratório de Química e Tecido Vegetal-IAPAR, pelo auxílio nas coletas, análise laboratoriais, pela amizade e contribuição na obtenção dos resultados.

Agradeço aos demais colegas do doutorado que me acompanharam nesta trajetória, e a todos que, com boa intenção, colaboraram para a realização e finalização deste trabalho.

Silva, Andréa Scaramal. **Atributos microbiológicos e físicos de uma latossolo sob integração lavoura-pecuária no arenito caiuíá**. 2017. 116 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

O sistema de integração lavoura pecuária (ILP) tem se mostrado uma alternativa viável para a recuperação e manutenção das características do solo, por meio da rotação de culturas e animais. Assim, este trabalho teve por objetivo a análise e determinação de indicadores para avaliação da qualidade do solo em sistema de integração lavoura-pecuária. As atividades foram desenvolvidas na estação experimental do Instituto Agronômico do Paraná-IAPAR, no município Xambê em um LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico. Os tratamentos constaram de diferentes alturas de pasto: 10; 20; 30; 40 cm (IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40, respectivamente), uma área sem pastejo (SP), e uma área de referência sob vegetação nativa (AR). O solo foi submetido às análises físicas (textura, estabilidade de agregados e porosidade), caracterização química e análises microbiológicas por meio do carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM), respiração microbiana (RM), quociente metabólico (qCO_2) e quociente microbiano (qMIC), atividade enzimática (celulase, fosfatase ácida, β -glucosidade, arilsulfatase e FDA), estrutura e diversidade microbiana. No início do experimento os teores de CBM do solo na pastagem foram favorecidos pela inserção dos animais no sistema. A Alta intensidade de pastejo durante o ciclo da pastagem provocou redução no CBM do solo, com efeito negativo sobre a mesma na cultura sucessora. No entanto, aumentos nos teores de CBM, RM, qCO_2 foram observados após três anos do sistema ILP. Dentre as enzimas avaliadas, somente a β -glucosidase, arilsulfatase e celulase foram sensíveis para avaliar o manejo ILP. Sequências correspondente a 24 Filos bacterianos foram identificados, porém em todos os tratamentos predominaram sequências de bactérias não classificadas. Entre os Filos identificados nas amostras, os mais abundantes foram Proteobacteria, Acidobacterias, Firmicutes e Verrucomicrobia. As comunidades bacterianas do solo foram significativamente alteradas com a implantação de um sistema ILP, especialmente pela adição de fertilizantes inorgânicos no solo. Com o aumento da intensidade de pastejo animal observou-se incremento na macroporosidade e a porosidade total do solo. Sendo que, a comunidade bacteriana apresentou correlação negativa com macroporosidade e densidade do solo e correlação positiva com porosidade total e microporosidade. O diâmetro médio ponderado (DMP) e o índice de estabilidade de agregados (IEA), foram influenciados pela altura de pastejo e a profundidade de amostragem. O que se verifica e que em situação sem estresse, indiferente da intensidade pastejo ou sem pastejo, o sistema ILP sob as condições estudadas consegue manter elevados teores de nutrientes que favorecem a qualidade física e microbiológica do solo.

Palavras-chave: Atributos biológicos. Atributos físicos. Estrutura e diversidade microbiana. Qualidade do solo.

Silva, Andréa Scaramal. **Microbiological and physical attributes of a latosol under croplivestock integration in the Caiuá sandstone**. 2017. 116 p. Thesis (Doctoral Degree in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

Integrated crop-livestock system (ICLs) has a viable alternative for the recovery and maintenance of soil characteristics, through the rotation of crops and animals. The objective of this job was to analyze and determine indicators for the evaluation of soil quality in the crop-livestock integration system. The activities were developed experimentally at the Agronomic Institute of Paraná-IAPAR, in the municipality of Xambrê in Latossolo Vermelho distrófico típico [Oxisol]. The treatments consisted of different grass heights: 10; 20; 30; 40 cm (IP-10, IP-20, IP-30 and IP-40, respectively), an area without grazing (SP), and a reference area under native vegetation (AR). The soil was submitted to physical analysis (texture, aggregate stability and porosity), chemical characterization and microbiological analyzes by means of carbon and nitrogen of microbial biomass (CBM and NBM), microbial respiration (RM), metabolic quotient (qCO_2) and ($qMIC$), enzymatic activity (cellulase, acid phosphatase, β -glucosidase, arylsulfatase and FDA), microbial structure and diversity. At the beginning of the experiment the MBC levels of the soil in the pasture were favored by the insertion of the animals into the system. The high grazing intensity during the grazing cycle caused a reduction in the MBC of the soil, with negative effect on the same in the successor crop. However, increases in CBM, RM, and CO_2 levels were observed after three years of the ILP system. Among the enzymes evaluated, only β -glucosidase, arylsulfatase and cellulase were sensitive to evaluate ILP management. Sequences corresponding to 24 bacterial phyla were identified, but in all treatments predominant sequences of non-classified bacteria. Among the phyla identified in the samples, the most abundant were Proteobacteria, Acidobacterias, Firmicutes and Verrucomicrobia. Soil bacterial communities were significantly altered with the implantation of an ILP system, especially by the addition of inorganic fertilizers in the soil. With the increase of the intensity of animal grazing it was observed an increase in the macroporosity and the total porosity of the soil. The bacterial community presented negative correlation with macroporosity and soil density and positive correlation with total porosity and microporosity. The weighted mean diameter and the aggregate stability index were influenced by treatments of grazing height and depth of sampling. This is verified and that in a situation without stress, indifferent to grazing intensity or without grazing, the ILP system under the conditions studied can maintain high levels of nutrients that favor the physical and microbiological quality of the soil.

Keywords: Biological attributes. Physical attributes. Microbial structure and diversity. Soil quality.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO A

- Figura 3.1** - Dados de precipitação e temperaturas máxima e mínima coletados durante o período de maio de 2011 a março de 2012 na Estação Experimental do IAPAR em Umuarama, PR, próxima a Xambrê, onde foi conduzido o experimento de integração lavoura pecuária..... 41
- Figura 3.2** - Carbono microbiano relativo* em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, em sistema de integração lavoura-pecuária, em diferentes intensidades de pastejo, na profundidade de 0 a 10 cm, conduzido na estação experimental do IAPAR no município de Xambrê, PR. * $IP \times 100/SP$, para cada tratamento de pastejo em cada cultivo..... 47

ARTIGO B

- Figura 4.1** - Abundância relativa dos diferentes filos bacterianos encontrados nos tratamentos determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo e AR-área de mata nativa 56
- Figura 4.2** - Comparação das médias de abundância dos principais filos das comunidades bacterianas, nos tratamentos determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo e AR-Área de mata nativa pelo teste t de White com medida não paramétrica 57
- Figura 4.3** - Análise de Componentes Principal (PCA) de pela métrica UniFrac da comunidade bacteriana dos nos tratamentos determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo e AR-área de mata nativa 60

ARTIGO C

- Figura 5.1** - Análise de agrupamento (*heatmap*) ao nível de filo baseada no perfil das comunidades bacterianas em áreas de integração lavoura-pecuária

com diferentes intensidades de pastejo (IP) e sem pastejo (SP) por comparação múltipla por Tukey-Kramer ($p < 0,05$) 71

Figura 5.2 - Comparação do perfil taxonômico da comunidade bacterianas ao nível de filo entre as áreas com e sem pastejo animal em sistema de integração lavoura-pecuária. *P*-valor corrigidos foram calculados pelo teste t de Welch ($p < 0,05$) 72

ARTIGO D

Figura 6.1 - Precipitação e temperaturas máxima e mínima durante o período de maio a outubro de 2013 na região de Xambrê, PR. Fonte: IAPAR 79

Figura 6.2 - Carbono da biomassa microbiana (CBM) e Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, com diferentes intensidades de pastejo (IP), IP-10, 20, 30 e 40, correspondendo respectivamente a 10, 20, 30 e 40 cm e SPsem pastejo nas camadas 0-10 cm, 10-20 cm e 20-30 cm 84

Figura 6.3 - Análise de componentes principais (ACP) baseada em variáveis microbiológicas, físicas e químicas, em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária, com pastagem e soja em sucessão, com diferentes intensidades de pastejo (IP), IP-10, 20, 30 e 40, correspondendo respectivamente a 10, 20, 30 e 40 cm e SP- sem pastejo na profundidade de 0 - 10 cm..... 89

LISTA DE TABELAS

ARTIGO A

- Tabela 3.1** - Lotação e números de bovinos por parcela nos tratamentos de intensidade de pastejo (IP), para obter as diferentes alturas de pastagem de *Brachiaria ruziziensis* durante o período de pastejo (maio/2011 a setembro/2011), em experimento de integração lavoura pecuário conduzido na estação experimental do no município de Xambrê, PR..... 42
- Tabela 3.2** - Características químicas de LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade 0-10 cm, conduzido na estação experimental do IAPAR no município de Xambrê, PR..... 43
- Tabela 3.3** - Carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração microbiana (RM) e quociente metabólico (qCO_2) em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade de 0 a 10 cm..... 45
- Tabela 3.4** - Atividade enzimática da arilsulfase, fosfatase ácida, β -glucosidase, celulase e fosfatase ácida, em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade de 0 a 10 cm..... 49

ARTIGO B

- Tabela 4.1** - Características químicas de LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade 0-10 cm, conduzido na estação experimental do IAPAR no município de Xambrê, PR..... 54
- Tabela 4.2** - Classe dos Filos Proteobacteria, Acidobacteria, Firmicutes e Verrucomicrobia de maior ocorrência nos tratamentos determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10,

20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo e AR- área de mata nativa 58

Tabela 4.3 - Número de Unidades Taxonômicas Operacionais (OTU) formadas (97 % de similaridade) e estimativas de diversidade e riqueza para as amostras de solo nos tratamentos determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo e ARárea de mata nativa 59

ARTIGO C

Tabela 5.1 - Características químicas de Latossolo Vermelho distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade 0-10 cm, conduzido na estação experimental do IAPAR no município de Xambê, PR..... 68

Tabela 5.2 - Atributos físicos do solo em um sistema de integração Lavoura-Pecuária submetido a diferentes intensidades de pastejo animal (IP) e sem pastejo (SP), na camada de 0-10 cm de profundidade 70

Tabela 5.3 - Correlação de Pearson dos atributos físicos e biológicos do solo submetido a diferentes intensidades de pastejo animal em um sistema de integração Lavoura-Pecuária..... 73

ARTIGO D

Tabela 6.1 - Características químicas e físicas de LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade 0-10 cm, conduzido na estação experimental do IAPAR no município de Xambê, PR..... 82

Tabela 6.2 - Respiração microbiana (RM), quociente metabólico (qCO_2) e $qmic$ em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), nas camadas 0-10 cm, 10-20cm e 20-30 cm 86

Tabela 6.3 - Atividade enzimática da arilsulfase, fosfatase ácida, β -glucosidase e fosfatase ácida em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavourapecuária, com pastagem e soja em sucessão, com diferentes intensidades de pastejo (IP), na camada de 0 a 10 cm.....	87
Tabela 6.4 - Diâmetro médio ponderado (DMP) e Índice de estabilidade de agregados (IEA) em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), nas camadas 0-10cm, 10-20cm e 20-30cm	88

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
2	REVISÃO DE LITERATURA	29
2.1	INTEGRAÇÃO LAVOURA PECUÁRIA.....	29
2.2	QUALIDADE DO SOLO	31
2.3	INDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO.....	32
2.3.1	Indicadores Físicos	33
2.3.2	Indicadores Microbiológicos	34
3	ARTIGO A: ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS DO SOLO EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA	39
3.1	RESUMO.....	39
3.2	INTRODUÇÃO	39
3.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.5	CONCLUSÕES	50
4	ARTIGO B: MUDANCAS NA ESTRUTURA DA COMUNIDADE BACTERIANA NO SOLO INFLUENCIADAS POR UM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURAPECUÁRIA	51
4.1	RESUMO.....	51
4.2	INTRODUÇÃO	51
4.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	52
4.4	RESULTADOS	55
4.5	DISCUSSÃO	60
5	ARTIGO C: ATRIBUTOS FÍSICOS E COMUNIDADE BACTERIANA DE SOLO SOB SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA	64
5.1	RESUMO.....	64
5.2	INTRODUÇÃO	65
5.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	66
5.4	RESULTADOS	70

5.5	DISCUSSÃO	73
6	ARTIGO D: INFLUENCIA DE DIFERENTES INTENSIDADES DE PASTEJO EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUARIA SOBRE OS ATRIBUTOS FISICOS E MICROBIOLÓGICOS DO SOLO	77
6.1	RESUMO.....	77
6.2	INTRODUÇÃO	77
6.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	79
6.3	RESULTADOS	83
6.4	DISCUSSÃO	89
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	97
8	REFERENCIAS.....	98

1 INTRODUÇÃO

Em solos agrícolas, o manejo adequado é o principal fator a ser considerado quando se busca uma agricultura sustentável, uma vez que o sistema de produção interfere de modo significativo nas suas propriedades físicas, químicas e biológicas, as quais desempenham papel fundamental para manutenção ou mesmo a melhoria da qualidade dos solos.

Neste contexto, a adoção de sistemas de plantio direto e integrados de produção tem se destacado como alternativas para melhoria dos atributos do solo, e, desta forma, para a manutenção e/ou recuperação de seu equilíbrio e da boa produção.

O sistema de integração lavoura-pecuária (ILP), refere-se a associação entre cultivos agrícolas e produção animal, sendo utilizada em diferentes partes do mundo. Como toda prática agrícola, o sistema ILP ocasiona alterações no solo, uma vez que, o manejo dos animais, das pastagens e das culturas agrícolas numa mesma área influencia as interações entre os componentes químicos, físicos e biológicos do solo e as transformações que ocorrem nos processos de ciclagem de nutrientes.

Assim, investigar e entender formas de melhor manejar o pasto é essencial para se atingir a contento os objetivos do sistema ILP. A altura da pastagem, além de ser característica essencial para boa produção, tanto da planta, como dos animais, resulta também em entradas e fluxos diferenciados de nutrientes. Que em solos de baixa fertilidade torna-se ainda mais importante, uma vez que o maior desafio para esse sistema seria estabelecer uma produção visando a reformar as pastagens degradadas, devido ao esgotamento da fertilidade do solo e o manejo inadequado das plantas e, garantir maior rentabilidade e sustentabilidade aos sistemas produtivos.

Tendo em vista que o sistema ILP pode alterar as propriedades do solo, algumas questões foram levantadas: Como o preparo do solo e as intensidades de pastejo afetam a comunidades bacteriana do solo? Quais grupos bacterianos são influenciados pelo sistema ILP? Qual o efeito das diferentes intensidades de pastejo sobre a biomassa microbiana, atividade microbiana e a estrutura do solo?

Com base nestes questionamentos formulou-se as seguintes hipóteses:

- Se a atividade microbiana é um importante componente do funcionamento de sistemas agropecuários complexos, então sua determinação a partir da atividade enzimática, do carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, e da diversidade taxonômica podem ser indicadores sensíveis para o monitoramento do componente biológico da qualidade dos solos sob uso do sistema integrado lavoura-pecuária;

- Se existe uma relação entre as alterações dos indicadores biológicos, físicos e químicos do solo e a sustentabilidade dos agrossistemas, então, a análise desses atributos em conjunto poderá antecipar ou prever a ocorrência de alterações que possam afetar a qualidade dos solos.

Neste contexto, o trabalho teve como objetivo estudar o efeito do sistema agrícola ILP em diferentes intensidades de pastejo e sem pastejo, através de avaliações de atributos físicos, da biomassa/atividade microbiana e diversidade da comunidade bacteriana do solo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INTEGRAÇÃO LAVOURA PECUÁRIA

A integração lavoura-pecuária (ILP) é uma tecnologia que combina em uma mesma área e em épocas distintas, o cultivo de lavoura para grãos e pastagens para pecuária (ANGHINONI et al., 2011). É um sistema de produção flexível com opção de diversificação da renda da propriedade rural, menos intensivo no uso de insumos, e por sua vez, mais sustentável, resultando em ganhos econômicos e ambientais (MACHADO et al., 2011).

Alguns trabalhos relatam melhorias na fertilidade do solo devido à acumulação de matéria orgânica (SALTON et al., 2010), melhoramento do ciclo de nutrientes (FLORES et al., 2008; CARVALHO et al., 2010), maior eficiência de fertilizantes (ASSMANN et al., 2003) e melhor agregação do solo (SALTON et al., 2008). Além disso, os sistemas integrados também apresentam ambiente biologicamente mais ativo em comparação com outros sistemas de cultivo (SILVA et al., 2011).

A reforma de pastagens degradadas é um dos principais objetivos da integração, onde a produção de grãos numa área degradada de pastagem ajuda na amortização de custos de recuperação da mesma. Outro objetivo importante é a utilização de pastagem em áreas degradadas de lavoura para a melhoria das condições físicas, químicas e biológicas dos solos, aumentando níveis de carbono e trazendo contribuições significativas para as condições de aeração e capacidade de infiltração de água (GONCALVES e FRANCHINI, 2007).

A ILP não é uma tecnologia nova, seus conceitos há muito estão em uso. No entanto, recentemente retoma forças no Brasil e no mundo por ser reconhecida como opção de sistema de produção onde se busca a intensificação da produção com sustentabilidade, sendo compatível com as atuais demandas da sociedade (CARVALHO et al., 2005).

Em nível global o sistema ILP apresenta perspectivas promissoras, a FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) considera o sistema ILP como uma alternativa sustentável para atender a demanda de alimentar 9 bilhões de pessoas em 2050. A FAO reconhece que os sistemas ILP, incrementam a resiliência ambiental, promovida pelo aumento da diversidade biológica, ciclagem de nutrientes, melhoria da qualidade do solo, provimento de serviços ecossistêmicos e contribuição para adaptação e mitigação das mudanças climáticas (ANGHINONI et al., 2011).

No Brasil, os sistemas ILP vem despertando o interesse tanto do produtor, como dos governantes. O governo brasileiro se comprometeu a reduzir as emissões nacionais de CO₂ até

2020. Para isso, está fomentando as iniciativas de adoção de sistemas ILP, com uma contribuição estimada em torno de 18 a 22 milhões de toneladas de redução de CO₂, incrementando em pelo menos quatro milhões de ha, com áreas operando neste tipo de sistema (BRASIL, 2009; BRASIL, 2010).

Com as características climáticas, econômicas e estruturais únicas de cada região, esses sistemas de produção estão dispostos de várias maneiras diferindo na especificidade, detalhes de implementação e fases de rotação entre a cultura e a pecuária (SALTON et al., 2008; BALBINOT et al., 2009, CARVALHO et al., 2010).

No centro do país, a ILP tem sido apresentada como alternativa de recuperação de pastagens degradadas e também como recuperadora dos estoques de carbono das áreas agrícolas. A ILP tem sido justificada até como forma de diminuir a pressão por desmatamento na Amazônia, pois a pecuária sendo conduzida em associação com lavouras, em solos mais férteis e recuperados, não teria porque migrar para novas áreas (ANGHINONI et al., 2011).

Na região Sul do País a ILP é praticada há décadas, classicamente representada pelas rotações da lavoura de arroz irrigado com a pastagem no Rio Grande do Sul e pelas rotações das lavouras de milho e soja com pastagens de inverno nos Planaltos do Rio Grande do Sul ao Paraná (CONTE et al., 2007).

Na região noroeste do Paraná, que corresponde à região do arenito, foco de desenvolvimento deste trabalho, o maior desafio seria estabelecer um sistema de integração lavoura pecuária visando reformar as pastagens degradadas, devido ao esgotamento da fertilidade do solo e o manejo inadequado das plantas e garantir maior rentabilidade e sustentabilidade dos sistemas produtivos (ALVES, 2011; FRANCHINI et al., 2016).

Muito se discute sobre as consequências da introdução do fator animal, sendo importante manejar de forma adequada a cultura forrageira sem proporcionar danos à qualidade do solo e, nem comprometer a quantidade de cobertura que restará no solo ao final do ciclo. Dessa forma, a intensidade de pastejo deve ser estudada não só em função da compactação proporcionada pelo pisoteio animal, mas sim por todos os fatores proporcionados pelo maior ou menor porte de manutenção da forrageira. Souza et al. (2008) afirmam que o manejo influencia no crescimento radicular da forrageira e da cultura de grãos, sendo que altas intensidades de pastejo acarretam maior crescimento das raízes, com alterações no aporte de matéria orgânica em profundidade.

Alguns estudos visam responder como a altura de pastejo pode contribuir para melhoria do Sistema ILP e, dessa forma, para a qualidade do solo. Fidalski (2015), avaliando um sistema ILP no seu primeiro ano, no noroeste do Paraná, verificou que a altura de pastejo

de 20 cm em *Braquiária ruziziensis* proporciona o maior aporte de carbono orgânico total ao solo, o que contribui para o aumento da qualidade física do solo. Na mesma área experimental, Silva et al., (2015) observaram que a altura de pastagem de 10 cm durante o ciclo da pastagem pode provocar redução no carbono da biomassa microbiana do solo, para a cultura sucessora. Souza et al. (2009) citam que intensidades de pastejo moderadas (20 a 40 cm) em ILP promovem aumento nos estoques de carbono orgânico total, carbono orgânico particulado, nitrogênio total e nitrogênio na matéria orgânica particulada no solo, semelhante ao plantio direto sem pastejo, proporcionando ganhos na qualidade do solo. Já na alta intensidade de pastejo (10 cm) ocorrem perdas nos estoques desses elementos a partir do terceiro ano de ILP, com destaque para perda de qualidade do manejo do solo.

No entanto, Conte et al. (2011) e Moreira et al. (2012) observaram que não há alterações significativas na densidade e na porosidade do solo após sete e oito anos, respectivamente, em sistema de ILP com diferentes intensidades de pastejo (10, 20, 30 e 40 cm). Outros estudos mostram que as possíveis mudanças na estrutura física do solo não alteram a produtividade de culturas de verão, como a soja (FLORES et al., 2007) nem as condições ideais para a produção vegetal (SPERA et al., 2010).

Portanto, a complexidade dos sistemas integrados de produção é considerada sustentável e viável do ponto de vista econômico e ambiental (SALTON, 2005). No entanto, para que os objetivos propostos pela ILP sejam atingidos, uma avaliação conjunta dos componentes químicos, físicos e biológicos do solo são essenciais para medidas mitigatórias.

2.2 QUALIDADE DO SOLO

Conceitos de qualidade da água e do ar são temas bem conhecidos por pesquisadores, além disso, sabem como o uso inadequado desses recursos pode afetar a saúde humana e o meio ambiente. Entretanto, a despeito da importância do solo para a humanidade, como base para todo o sistema de produção alimentar, de fibras e de agroenergia, o interesse pelo tema "Qualidade de solo" é relativamente recente, datando do fim da década de 1980 e início da década de 1990 (MENDES et al., 2009).

Doran & Parkin (1994), foram os primeiros a propor uma definição mais abrangente sobre a "Qualidade do Solo" (QS). Estes autores consideram a qualidade do solo como a capacidade deste de funcionar dentro dos limites do ecossistema para sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade ambiental e promover a saúde de plantas, animais e humana. Esta abordagem leva em consideração não apenas o papel do solo na produção

agrícola, mas também a sua participação em funções específicas no ecossistema, compreendendo a sustentabilidade do sistema agrícola em longo prazo.

Há um consenso entre pesquisadores e agricultores de que a manutenção e melhoria da qualidade do solo é um elemento-chave para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas, porém a avaliação dessa qualidade não é uma tarefa fácil (MENDES et al., 2011). Isso ocorre em virtude da multiplicidade de fatores químicos, físicos e biológicos que controlam os processos biogeoquímicos e suas variações em escala temporal aliados à complexidade do solo.

Desta forma, para melhor inferir sobre a qualidade do solo dentro do entendimento acima proposto para QS, ficou definido entre os estudiosos da área, a necessidade do uso de um conjunto mínimo de indicadores para serem utilizado nas diferentes análises (DORAN; PARKIN, 1994; MENDES et al., 2009; NOGUEIRA; HUNGRIA, 2013).

2.3 INDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO

Indicadores de qualidade do solo foram definidos do ponto de vista do desenvolvimento ecológico, econômico e social; eles costumam levar em consideração as propriedades do solo ou culturas associadas que podem ser usados em resposta às mudanças dinâmicas em agroecossistemas. (MARTINEZ- SALGADO, 2010).

De acordo com USDA, os indicadores de qualidade do solo são classificados em quatro categorias: visual, física, química e biológicos.

Indicadores visuais podem ser obtidos por meio de visitas de campo, a percepção dos agricultores, e conhecimento local. A exemplo destes, têm-se a identificação por meio da observação ou interpretação fotográfica, exposição do subsolo, a erosão, a presença de plantas daninhas, cor, tipo de cobertura, etc. (MARTINEZ- SALGADO, 2010).

Dentre os indicadores físicos temos estrutura do solo, que é relacionada com retenção e transporte de água e nutrientes, infiltração e densidade do solo, que indicam o movimento da água nas camadas, e, porosidade do solo e capacidade de retenção da umidade, indicando o armazenamento e disponibilidade de água (DORAN; PARKIN, 1994).

Em paralelo, Doran e Parkin (1994) cita também o pH, condutividade elétrica e conteúdo de N, P e K como indicadores químicos para mensurar respectivamente a atividade biológica e disponibilidade de nutrientes, crescimento vegetal e atividade microbiana e a disponibilidade de nutrientes para as plantas.

Estes indicadores se complementam, formando em conjunto uma visão mais sólida da qualidade do solo, abordando mais de uma visão e permitindo resultados mais precisos (STEMBERG, 1999).

Evidentemente, a escolha de determinados indicadores depende da finalidade a que se propõe a utilização de determinado solo. Além disso, a seleção de uma propriedade específica como indicador de qualidade do solo pode ser trabalhoso e variar de acordo com as características intrínsecas de cada ambiente. Em relação ao sistema ILP o solo é o componente principal, e reflete os efeitos das fases lavoura e pecuária, tratando-se de um “componente indicador” desse sistema (CARVALHO, et al., 2009).

2.3.1 Indicadores Físicos

A qualidade física de solos é um importante elemento de sustentabilidade, sendo uma área de estudo em contínua expansão (ARAUJO et al., 2012), já que as propriedades físicas e os processos do solo estão envolvidos no suporte ao crescimento radicular; armazenagem e suprimento de água e nutrientes, trocas gasosas e atividade biológica (ASHAD et al., 1996).

Geralmente, os principais indicadores físicos, que têm sido utilizados e recomendados são: textura, espessura, densidade do solo, resistência à penetração, porosidade, capacidade de retenção d'água, condutividade hidráulica, e estabilidade de agregados.

A textura do solo é uma das propriedades mais estáveis, sendo modificada levemente pelo cultivo e outras práticas que ocasionam a mistura de diferentes camadas (ASHAD et al., 1996). É uma propriedade que tem estreita relação com a retenção e o transporte de água, estrutura do solo, teor de nutrientes e de matéria orgânica, além de influenciar fortemente os processos erosivos do solo (FELLER; BEARE, 1997).

A estrutura do solo se refere ao tamanho e ao padrão de arranjo das partículas primárias (areia, silte e argila) e poros do solo, e como estão organizados (agregados). A intrincada dinâmica da agregação resulta da interação entre fatores ambientais, de manejo do solo, influência da planta e propriedades do solo, como: composição mineral, textura, carbono orgânico do solo, processos pedogenéticos, atividade microbiana, capacidade de troca catiônica, reserva nutricional e disponibilidade de água, sendo frequentemente expressa em termos de estabilidade de agregados (BRONICK ; LAL, 2005).

Segundo Sá et al. (2000), a estabilidade de agregados, o parâmetro que melhor se correlaciona com a erodibilidade do solo, influencia a infiltração, a retenção de água, a

aeração e a resistência à penetração de raízes, o selamento e o encrostamento superficial, a erosão hídrica e eólica. Com o cultivo, normalmente há redução nos teores da matéria orgânica e, conseqüentemente, na estabilidade de agregados, resultando no aumento da proporção relativa de microagregados no solo, cuja estabilidade não é influenciada pelo manejo (TISDALL; OADES, 1982).

A avaliação da estabilidade dos agregados em solos depende das forças que ligam as partículas e da natureza e magnitude das forças desagregantes aplicadas nesta avaliação (BEARE; BRUCE, 1993). O estado de agregação é um dos mais importantes índices de qualidade do solo, por incluir aspectos físicos, relacionados à estrutura, e bioquímicos, relacionados ao balanço de carbono (CARVALHO et al., 2011).

Com o pisoteio animal em sistemas de ILP os indicadores de atributos físicos são particularmente importantes. Alguns indicadores como a densidade do solo têm sua aplicação dificultada devido ao tamanho das parcelas, e pela heterogeneidade espacial do uso do pasto pelos animais, o que dificulta a obtenção de unidades amostrais representativas e que reflitam o efeito dos animais em nível de unidade experimental (ANGHINONI et al., 2011). Os indicadores de agregação do solo têm refletido o incremento na qualidade do solo quando do uso de uma fase pastagem sob pastejo em sistemas integrados, aliados aos indicadores de macro e microporosidade, importantes para compreender a dinâmica dos agregados (CARVALHO et al., 2009).

2.3.2 Indicadores Microbiológicos

Os micro-organismos, juntamente com a fauna e as raízes das plantas, constituem a fração viva da matéria orgânica do solo e são responsáveis por serviços ambientais, por isso, podem ser utilizados como bioindicadores, uma vez que estão intimamente relacionados ao funcionamento e a qualidade do solo (MENDES et al., 2009).

Já em 2007, Chaer e Tótola atestavam sobre a importância dos indicadores microbiológicos para uma avaliação precoce de eventuais efeitos adversos do manejo sobre a qualidade do solo, confirmando isso Giacomettia (2013) afirma que vários atributos microbiológicos e bioquímicos devem ser usados quando se quer avaliar o impacto do uso e manejo na qualidade do solo. Vasconcelos (2015) esclarece que os microorganismos expressam respostas rápidas às mudanças na qualidade do solo, característica que não observada nos indicadores químicos ou físicos.

A atividade biológica acontece com maior frequência e abundância nas primeiras camadas do solo, a profundidade entre 1 a 30 cm e, é nesta parte do solo que a rizosfera se estabelece (região do solo ao redor da raiz) (MOREIRA ; SIQUEIRA, 2006). As raízes das plantas sintetizam uma gama variada de compostos (geralmente chamado de exsudatos radiculares) que estimulam a proliferação das comunidades microbianas (WALKER et al., 2003). As relações e interações metabólicas entre essas comunidades microscópicas interferem diretamente nos ciclos biogeoquímicos porque são considerados os principais responsáveis pela degradação enzimática de restos orgânicos para posterior decomposição, transformação e distribuição de nutrientes no solo (PULROLNIK, 2009; SILVA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014).

Diversos outros processos, além da decomposição da matéria orgânica (MO), são realizados pelos micro-organismos do solo. Atuam através de processos diretos de promoção de crescimento vegetal, tais como, solubilização de fosfatos inorgânicos, produção de fitohormônios, fixação de nitrogênio (FBN), produção de sideróforos; e também, por processos indiretos como, por exemplo, controle biológico de fitopatógenos e insetos, aumento da resistência a estresses bióticos e abióticos, entre outros (KAN et al., 2007; OLIVEIRA-LONGATTI et al., 2013; BULGARELLI et al., 2013).

Neste contexto fica claro que, a fração biológica do solo é a parte que mais influência no potencial de uso, na produtividade e na sustentabilidade global dos sistemas naturais, bem como dos agroecossistemas. Estes componentes são considerados os mais sensíveis às mudanças no ambiente, devido a atuações antrópicas, e em virtude de possuir estreita inter-relação com os demais indicadores físicos e químicos (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007).

Há dois enfoques para o estabelecimento de critérios de referência quando estudamos bioindicadores: a condição de solo nativo e condições que maximizem a produção e conservem o meio ambiente (“comparative assessment”). Ainda, adota-se como referência critérios de variação temporal (“dynamics assessment”) quando ocorre o acompanhamento de uma mesma área MENDES et al., 2011. O uso de áreas nativas, com mínimos impactos antropogênicos, como critério de referência tem prevalecido nos estudos acerca de qualidade do solo (DICK, 1994; DORAN; PARKIN, 1994; MENDES et al., 2003).

Dentre os parâmetros mais usados pela comunidade científica e que apresentam maior sensibilidade como representantes dos bioindicadores, estão: carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS), respiração basal do solo (RBS), quociente metabólico (qCO₂), atividade enzimática, análise da diversidade microbiana, entre outros (PANKHURST et al., 1997; NOGUEIRA; HUNGRIA, 2013; VASCONCELOS, 2015). A avaliação ambiental, através do

monitoramento microbiano é relacionada diretamente à reação natural dos organismos vivos aos estímulos que ocorrem no ambiente (LIMA, 2001).

A biomassa microbiana do solo (BMS) está entre os atributos biológicos mais significativos para o desenvolvimento de estudos da QS, pois representa o dorso central dos ciclos do Carbono, Nitrogênio e Fósforo, levando o solo a atuar como compartimento de reserva destes nutrientes (SOUZA et al., 2010). Esta fração é considerada a parte viva e mais ativa da matéria orgânica, geralmente expressa em μg de C g^{-1} de solo seco ou mg de C kg^{-1} de solo seco. Essa biomassa é constituída por fungos, bactérias e actinomicetos.

O teor de matéria orgânica (MO) é uma propriedade do solo essencial para manter a fertilidade deste ecossistema, porém, ocorre que está só é reversível ou mutável a longo prazo (REIS JUNIOR; MENDES, 2007). Portanto, a manutenção da MO implica em uma boa aeração e/ou descompactação do solo para permitir oxigenação e melhor circulação de água na rizosfera. Além disso, temperatura e a fonte vegetal depositada no solo determinarão o volume final de MO no sistema. Correlações positivas entre a MO e a BMS mostram uma relação bastante estreita, uma vez que alterações significativas na biomassa microbiana podem ser detectadas com antecedência quando comparadas às mudanças na MO (ROSCOE et al., 2006). Isto porque 95% a 99% da MO é constituída por frações mortas, relativamente estáveis e resistentes a alterações, e assim, mudanças significativas nessas frações podem levar anos para serem detectadas (RICE et al., 1996).

Contudo, apenas as determinações da BMS não fornecem indicações sobre os níveis de atividade das populações de micro-organismos, ou seja, pode haver no solo elevadas quantidades de biomassa inativa justificando a importância das análises que medem a atividade microbiana ou o estado metabólico atual e potencial dessas comunidades (TÓTOLA; CHAER, 2002; MENDES et al., 2009).

A respiração microbiana é um atributo bastante utilizado para avaliar a atividade biológica, sendo a quantidade de CO_2 liberada pela respiração dos micro-organismos tanto aeróbios quanto anaeróbios. É um dos métodos mais tradicionais e mais utilizados para avaliar a atividade metabólica da população microbiana do solo (ZIBILSKE, 1994). Em definição, a RM é a soma total das funções metabólicas nas quais o CO_2 é produzido. Esta medida possui uma estreita relação com as condições abióticas do solo, entre elas, umidade, temperatura e aeração (CATTELAN; VIDOR, 1990), as quais influenciam o estado fisiológico das células, interferindo na eficiência da atividade metabólica pelos micro-organismos (REIS JUNIOR; MENDES, 2007). Bactérias e fungos são os principais responsáveis pela maior liberação de CO_2 via degradação da matéria orgânica (MO).

O valor de C-BMS em associação com a RBS permite calcular o quociente metabólico do solo (qCO_2). Pela razão matemática entre a RBS por unidade de C-BMS e tempo, é possível estimar a eficiência do uso de substrato pelos micro-organismos do solo. O quociente metabólico (qCO_2) é um índice que expressa a taxa de respiração por unidade microbiana (ANDERSON; DOMSCH, 1993).

A fim de avaliar a atividade metabólica microbiana de um solo em relação a sua eficiência biológica, outros cálculos ainda podem ser desenvolvidos para ampliar os parâmetros de avaliação, dentre eles está o chamado quociente microbiano ($qMIC$). Este valor é obtido pela relação entre o carbono da biomassa microbiana e o carbono orgânico total do solo. O $qMIC$ é um índice utilizado para fornecer indicações sobre a qualidade da matéria orgânica. Em condições estressantes para os micro-organismos (pH, deficiências nutricionais, metais pesados, etc), a capacidade de utilização do C é menor, conduzindo ao decréscimo do $qMIC$ (WARDLE, 1994).

As enzimas do solo participam de reações metabólicas intercelulares, sendo responsáveis pelo funcionamento e pela manutenção dos seres vivos e desempenham papel fundamental atuando como catalizadoras de várias reações que resultam na decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, formação da matéria orgânica e da estrutura do solo (MENDES, et al., 2011).

Dentre as enzimas que podem ser encontradas no solo destacam-se as hidrolases (α e β -glicosidases, ureases, desaminases, sulfatases, amidases, proteases, celulasas) e oxidorreduções (polifenol oxidases, peroxidases), muitas dessas disponibilizando minerais (AJWA, et al., 1999). Por serem muito sensíveis às mudanças ambientais, as enzimas podem ser mais adequadas como bioindicadores do que os micro-organismos, visto que menos de 1% dos micro-organismos do solo podem ser isolados e cultivados em laboratório (TORSVIK; OVREAS, 2002). Muitos trabalhos têm demonstrado o grande potencial das análises enzimáticas como indicadores sensíveis para detectar diferenças entre solos e mudanças que variam em função da influência antrópica nos mesmos (DICK, 1994, TRASAR-CÉPEDA et al., 1998, MENDES et al., 2003).

A percepção da qualidade do solo evoluiu. Antes se classificava um solo de alta qualidade apenas considerando sua boa fertilidade, mas, nas últimas décadas percebeu-se que um solo de alta qualidade possui também como indicadores boa estruturação e abriga alta diversidade de organismos (ZILLI, et al., 2003).

Alguns indicadores biológicos fornecem apenas uma estimativa da presença dos micro-organismos no solo, sem considerar a estrutura e a composição das comunidades

microbianas presentes nesses ambientes (ZILLI, et al., 2003). O solo comporta uma alta diversidade genética de organismos que possuem funções ecológicas específicas catalizando partes de todos os processos biogeoquímicos de extrema importância que ocorrem (MATTOS, 2015) para a manutenção da vida na Terra.

As avaliações de diversidade microbiana fornecem indicativos ecológicos de riqueza (número de espécies), abundância (equitatividade) e diversidade presentes em um determinado solo (MENDES, et al., 2011). Uma vez percebida a importância dos microorganismos, pesquisadores concentraram esforços no desenvolvimento de técnicas para isolar, cultivar e identificar em laboratório e classificar esses organismos, no entanto, essas técnicas ofereciam uma visão limitada do mundo microbiano (VAZ, et al, 2015).

O uso de técnicas moleculares nos últimos vinte anos tem fornecido métodos para identificação dos indivíduos de comunidades microbianas, resultando numa importante e inexplorada diversidade a ser estudada (HUGENHOLTZ, et al., 1998). A cada ano, uma média de 1700 novas espécies de fungos e 120 de bactérias tem sido descritas na literatura, contudo, alguns especialistas consideram que conhecemos menos de 10 % do total de espécies existentes no ambiente (COUTINHO, et al., 2001). Diferentemente da composição taxonômica, que reflete quais organismos estão presentes no solo, na maioria dos modelos de ecossistemas terrestres existe a capacidade de diferentes grupos microbianos realizarem um determinado processo funcional a uma taxa semelhante, independentemente das diferenças na sua diversidade taxonômica (ALLISON; MARTINY, 2008). Assim, torna-se essencial além de elucidar a composição microbiana do solo, entender como as atividades destas comunidades respondem a mudanças provocadas pela agricultura, sendo uma questão de pesquisa importante para prever o funcionamento de cada ambiente (KEISER, et al., 2011).

3 ARTIGO A: ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS DO SOLO EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA ¹

3.1 RESUMO

O sistema de integração lavoura-pecuária (ILP), tem se mostrado como uma alternativa viável para a recuperação e a manutenção das características do solo. Este estudo foi desenvolvido em um experimento de ILP conduzido pelo Instituto Agronômico do Paraná no município de Xambê (PR), com diferentes intensidades de pastejo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o carbono da biomassa microbiana e a atividade enzimática no solo, em sistema de integração lavoura-pecuária com soja cultivada no verão e *Brachiaria ruziziensis* no inverno, sendo esta, submetida a diferentes intensidades de pastejo. Os tratamentos constaram de diferentes alturas de pasto e intensidades de pastejo: 10; 20; 30; 40 cm (IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40, respectivamente), e uma área sem pastejo (SP). Os atributos microbiológicos analisados foram carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração microbiana (RM), quociente metabólico (qCO_2), atividade das enzimas fosfatase ácida, β -glucosidase, arilsulfatase, celulase e a hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA). Após o segundo ciclo da pastagem o tratamento IP-20 (intensidade moderada de pastejo 20 cm) apresentou os maiores teores de CBM e os menores de qCO_2 . Após o segundo ciclo da soja o tratamento com maior intensidade de pastejo IP-10 apresentou o menor teor de CBM. Os teores de CBM do solo na pastagem foram favorecidos pela inserção dos animais no sistema. A Alta intensidade de pastejo (10 cm de altura da pastagem) durante o ciclo da pastagem pode provocar redução no C da biomassa microbiana do solo, com efeito negativo sobre a mesma na cultura sucessora. Dentre as enzimas avaliadas, somente a arilsulfatase e celulase foram sensíveis para avaliar o manejo ILP. Com diferenças entre os tratamentos com intensidade moderada de pastejo (IP-20) e a área sem pastejo.

Termos de indexação: carbono da biomassa, respiração microbiana, fosfatase ácida, β -glucosidase, arilsulfatase, hidrólise do diacetato de fluoresceína.

3.2 INTRODUÇÃO

Em solos agrícolas, o manejo adequado é o principal fator a ser considerado quando se busca uma agricultura sustentável, uma vez que o sistema de produção interfere de modo significativo nas suas propriedades físicas, químicas e biológicas. Assim, o conceito atual de qualidade do solo preconiza o equilíbrio entre essas propriedades (DORAN, 1980; DICK, 1994). Neste contexto, o sistema de integração lavoura-pecuária (ILP), que por definição busca manejar alternadamente na mesma área gramíneas para pastagem e culturas anuais com o objetivo de produção de carne e/ou leite e de grãos (ANGHINONI et al., 2011) tem se

¹ Artigo publicado na Revista Brasileira de Ciência do Solo, 39:40-48, 2015.

mostrado uma alternativa de sistema de produção que possibilita a manutenção e/ou recuperação do equilíbrio das características do solo, com boa produção.

O princípio básico da ILP é a promoção da ciclagem de nutrientes, ou seja, a utilização dos nutrientes provenientes da decomposição dos resíduos vegetais e de origem animal que são produzidos e permanecem na área para a produção de pastagem ou grãos (ASSMANN et al., 2008). O pastejo estimula uma grande variedade de organismos do solo, envolvidos na decomposição da matéria orgânica, que liberam ou mineralizam o nitrogênio, fósforo, enxofre e outros nutrientes provenientes dos resíduos de plantas e dejetos animais (WAKELIN et al., 2009). Assim, o manejo dos animais, das pastagens e das culturas agrícolas numa mesma área influencia as interações entre os componentes químicos, físicos e biológicos do solo e as transformações que ocorrem nos processos de ciclagem de nutrientes (ASSMANN et al., 2008).

A biomassa microbiana do solo é a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo, sensivelmente alterada pelas condições que ocorrem no meio (Kaschuk et al., 2009). Mas, apesar de ser uma medida da população viva do solo, e conseqüentemente uma característica muito dinâmica do solo, é pouco informativa quando apresentada isoladamente (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Da mesma forma, as enzimas que ocorrem no solo desempenham papel fundamental atuando como catalisadoras de várias reações que resultam na decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, formação da matéria orgânica e da estrutura do solo e permitem avaliar diferentes aspectos dos componentes microbiológicos dos solos auxiliando nos estudos sobre o efeito de diferentes manejos de solo (BALOTA et al., 2014).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o carbono da biomassa microbiana e a atividade enzimática no solo, em sistema de integração lavoura-pecuária com soja cultivada no verão e *Brachiaria ruziziensis* no inverno, sendo esta, submetida a diferentes intensidades de pastejo.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido na estação experimental do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), no município de Xambê, coordenadas geográficas 23° 44' 10" S e 3° 29' 24" W e 418 m de altitude. O solo da estação experimental é classificado como LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico de acordo com o descrito em Embrapa (2013), com 15 % de argila, 5 % de silte e 80 % de areia. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é Cfa, clima subtropical (CAVIGLIONE et al., 2000). Os dados de temperatura e precipitação

observados na região, segundo a estação meteorológica do IAPAR, durante o período de estudo são apresentados na Figura 3.1.

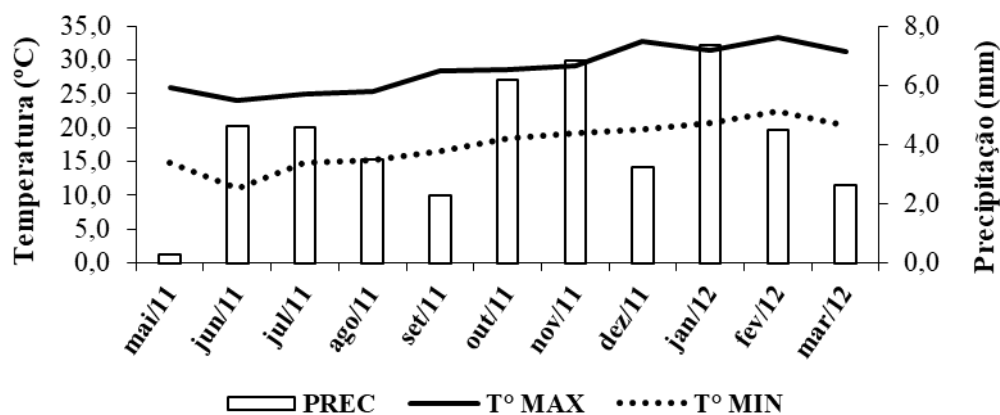


Figura 3.1- Dados de precipitação e temperaturas máxima e mínima coletados durante o período de maio de 2011 a março de 2012 na Estação Experimental do IAPAR em Umarama, PR, próxima a Xambrê, onde foi conduzido o experimento de integração lavoura pecuária.

Antes do início do experimento, a área foi cultivada por três safras agrícolas (2006/2007 e 2008/2009) com soja (*Glycine max*) no verão e aveia (*Avena sativa*) no inverno sem pastejo animal. Em maio de 2010, a área foi preparada e dividida em 15 parcelas experimentais de 1,0 ha sendo implantada a pastagem de *Braquiária ruziziensis*, que recebeu em superfície 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples, aos 25 e 50 dias após o plantio, e também 50 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia. A entrada dos animais para pastejo ocorreu em maio de 2010 quando a forrageira atingiu em média 30 cm de altura. Após a retirada dos animais, em setembro de 2010, a pastagem foi dessecada e a semeadura da soja realizada em plantio direto, em outubro de 2010, com a aplicação superficial de 60 kg ha⁻¹ de K₂O e, de 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅, como superfosfato simples, no plantio. Procedeu-se às mesmas adubações, tanto para a pastagem como para a soja, no ano de 2011.

Os tratamentos consistiram de uma área sem pastejo (SP) e de quatro intensidades de pastejo (IP) sendo IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40 correspondentes a altura em cm (10, 20, 30 e 40 cm respectivamente) da pastagem remanescente após o pastejo animal na área. Os tratamentos foram distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com três repetições, sendo a altura das pastagens realizada com ajuste da carga animal, verificado semanalmente com a entrada ou retirada de animais reguladores para manter a altura da pastagem o mais próximo da pretendida (AGUINAGA et al., 2006). O método de pastejo adotado foi o pastejo contínuo, com carga animal variável, por meio da utilização da técnica *put and take*, descrita

por MOTT; LUCAS (1952), sendo fixa a quantidade de dois animais experimentais por parcela e o número de animais reguladores variáveis. A lotação animal por parcela nos diferentes tratamentos durante o pastejo está descrita na tabela (3.1).

Tabela 3.1- Lotação e números de bovinos por parcela nos tratamentos de intensidade de pastejo (IP), para obter as diferentes alturas de pastagem de *Brachiaria ruziziensis* durante o período de pastejo (maio/2011 a setembro/2011), em experimento de integração lavoura pecuária conduzido na estação experimental do IAPAR no município de Xambê, PR.

Caracterização média de lotação	IP			
	IP-10	IP-20	IP-30	IP-40
Lotação (UA ha ⁻¹) ⁽¹⁾	2,6	2,4	1,9	1,7
Número de bovinos (unidade ha ⁻¹)	5,7	5,3	4,0	4,0

⁽¹⁾ 450 kg de peso vivo. IP= determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente.

As amostragens de solo foram realizadas em outubro de 2011, após o segundo cultivo da pastagem, e em março de 2012, após o segundo cultivo da soja, na camada de 0-10 cm, em 10 pontos por parcela, formando uma amostra composta e representativa por tratamento. No Laboratório de Microbiologia do Solo do IAPAR, as amostras foram homogêneas, passadas por uma peneira de malha 4 mm e armazenadas a temperatura de 7 °C ± 3 °C, até a avaliação. A determinação da umidade foi efetuada pelo método gravimétrico, secando-se as amostras em estufa a 100 °C por 24 h. O solo foi caracterizado quimicamente (Pavan et al., 1992) após a pastagem e após a cultura da soja (Tabela 3.2).

Tabela 3. 2 - Características químicas de LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade 0-10 cm, conduzido na estação experimental do IAPAR no município de Xambê, PR.

IP*	P	C	pH	Al	Ca	K	Mg	S	CTC
	mg dm ⁻³	g dm ⁻³							
	Após pastagem								
IP-10	31,63	7,63	4,63	0,14	1,08	0,20	0,52	1,80	5,97
IP-20	26,93	7,71	4,67	0,14	1,13	0,20	0,50	1,84	5,91
IP-30	26,27	7,74	4,63	0,17	0,99	0,21	0,49	1,69	5,76
IP-40	28,70	8,02	4,60	0,18	0,96	0,20	0,43	1,60	5,67
SP	30,73	8,02	4,67	0,17	0,92	0,20	0,46	1,59	5,66
	Após soja								
IP-10	31,10	9,26	4,70	0,08	1,50	0,13	0,67	2,30	5,90
IP-20	33,33	9,54	4,63	0,09	1,38	0,13	0,57	2,08	5,76
IP-30	34,30	9,50	4,70	0,07	1,29	0,13	0,59	2,00	5,68
IP-40	34,70	9,22	4,70	0,08	1,37	0,13	0,57	2,07	5,76
SP	27,07	8,72	4,67	0,07	1,26	0,12	0,54	1,93	5,52

Onde, P (Mehlich), C (Walkley-Black), pH (CaCl₂), Ca (KCl), Mg (KCl), K (Mehlich). Ca (cálcio); Mg (magnésio), K (potássio); S (soma de bases); CTC (Capacidade de Troca Catiônica); Al (saturação por alumínio); Médias de 3 repetições. *- determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo.

O carbono da biomassa microbiana foi determinado por fumigação-extração, segundo o método proposto por Vance et al. (1987). Para o cálculo foi utilizado o coeficiente de conversão de K_c = 0,33 (SPARLING; WEST, 1988).

A respiração microbiana (RM) foi determinada incubando-se 50 g de solo em frascos hermeticamente fechados, contendo 10 mL de uma solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹ em béquer para capturar o CO₂ liberado (ALEF, 1995). Após 7 dias, o NaOH 0,5 mol L⁻¹ remanescente foi quantificado por titulação com HCl 0,5 mol L⁻¹, com auxílio do indicador fenolftaleína. O quociente metabólico (*q*CO₂) foi determinado conforme Anderson & Domsch (1990), sendo esse atributo obtido a partir da relação C-CO₂/CBM.

A determinação da atividade das enzimas arilsulfatase (EC 3.1.6.1), fosfatase ácida (EC 3.1.3) e β-glucosidase (EC 3.2.1.21) foram realizadas segundo Tabatabai (1994), e expressa em µg *p*-nitrofenol liberado por hora por grama de solo (µg *p*-nitrofenol h⁻¹ g⁻¹ solo seco). A atividade da celulase (EC 3.2.1.4) foi determinada de acordo com Schinner; Von Mersi (1990), e expressa em µg de AR g⁻¹ de solo. A determinação da atividade microbiana se deu pelo método da hidrólise do diacetato de fluoresceína conforme descrito em Schnurer; Rossawall (1982), e expressa em µg de fluoresceína liberado por dia por grama de solo seco (µg F g⁻¹ solo seco).

Os resultados foram submetidos à análise de variância, aplicando-se o teste de médias de Tukey ($p < 0,05$) para as variáveis que apresentaram efeito de tratamento significativo. Utilizou-se o pacote estatístico SAS “Statistic Analytical System” (SAS, 1996).

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O carbono da biomassa microbiana (CBM) variou entre os tratamentos IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40 determinados a partir das alturas de pastagem (10, 20, 30 e 40 cm) e na área sem pastejo (SP), após pastagem e soja (Tabela 3.3). Após o período de pastagem, o tratamento IP-20 apresentou um valor de CBM ($68,75 \mu\text{g C g}^{-1}$ solo seco), significativamente ($p < 0,05$) maior que os valores obtidos para os demais tratamentos. Dentre estes, o CBM no tratamento IP-10 foi de $47,56 \mu\text{g C g}^{-1}$ solo seco e superou o valor no tratamento SP ($26,51 \mu\text{g C g}^{-1}$ solo seco). Resultados semelhantes foram verificados por Souza et al. (2010), após sete anos de rotação soja/pastagem em Latossolo Vermelho distroférico, no sul do Brasil, com valores de CBM mais elevados na intensidade de pastejo moderada (20 cm), em relação as demais intensidades (10, 30 e 40 cm) e área sem pastejo. Em intensidades moderadas de pastejo (20 cm), já ocorre adição significativa de resíduos da parte aérea da pastagem plantada de *Brachiaria ruziziensis*, que estimula a biomassa microbiana em decorrência da liberação de substâncias orgânicas como, exsudatos, mucilagens, secreções, e um sistema radicular denso e de constante renovação, que disponibiliza nutrientes para a microbiota do solo (TISDALL; OADES, 1982). Outro fator é a presença dos animais na área em ação de pastejo, que exerce papel importante na ecologia microbiana do solo, por meio de uma série de fatores específicos associados à presença dos animais, como a deposição de urina e fezes (CLEGG, 2006).

Em sistemas ILP com diferentes intensidades de pastejo, a quantidade de resíduos depositados e a distribuição de dejetos animal na área são diferenciadas. Conforme Baggio (2007), em intensidades moderadas de pastejo (20 cm), ocorre concentração de dejetos animais em determinados locais, pois o animal, tendo maior oferta de pastagem, permanece mais tempo em um mesmo local. Já em situações de baixa oferta de forragem, como no tratamento IP-10, o animal caminha mais para adquirir o alimento que necessita (BAGGIO, 2007), distribuindo os dejetos em vários pontos da área, isso irá alterar a distribuição de material orgânico lábil nos tratamentos, e pode afetar a atividade microbiana da parcela.

Tabela 3.3- Carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração microbiana (RM) e quociente metabólico (qCO_2) em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade de 0 a 10 cm.

IP*	CBM	RM	qCO_2
	$\mu\text{g C g}^{-1}$ solo seco	$\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$ solo dia ⁻¹	$\mu\text{g C-CO}_2 \mu\text{g}^{-1}$ C-CBM h ⁻¹
	Após pastagem		
IP-10	47,56 b	0,28 a	6,01 ab
IP-20	68,75 a	0,25 a	5,18 b
IP-30	40,51 bc	0,33 a	8,20 ab
IP-40	39,31 bc	0,31 a	7,85 ab
SP	26,51 c	0,26 a	9,88 a
CV%	13,97	20,46	25,35
	Após soja		
IP-10	49,74 c	0,16 a	3,27 a
IP-20	72,60 b	0,21 a	2,92 a
IP-30	79,20 ab	0,20 a	2,51 a
IP-40	96,12 a	0,27 a	2,76 a
SP	80,95 ab	0,21 a	2,53 a
CV%	10,53	45,48	29,55

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) de probabilidade. *- determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo.

Na pastagem, no tratamento IP-10, portanto com maior intensidade de pastejo, o valor de CBM foi superior ao observado no tratamento SP e não apresentou diferença significativa entre os tratamentos com intensidade de pastejo moderada (30 e 40 cm). No entanto, deve-se levar em consideração que durante o período de cultivo da pastagem e do pastejo, as temperaturas ficaram amenas (Figura 3.1). Resultados semelhantes foram observados por Souza et al., (2010), onde em situações sem estresse, não ocorreu diferenças entre os tratamentos IP-10, IP-30 e IP-40. Segundo Souza et al. (2009), em intensidades elevadas de pastejo, a princípio ocorre maior acúmulo de C no sistema, devido a maior adição de resíduos de origem animal e constante renovação da pastagem com o pastejo intensivo. Como o CBM é influenciado pela disponibilidade de nutrientes minerais e pelo C orgânico do solo, o acúmulo desse material no solo irá aumentar a matéria orgânica, estimulando a biomassa microbiana. No entanto, o tempo de instalação do sistema pode ter papel determinante, como em Souza et al. (2009) que após três anos de sistema ILP sob plantio direto, observaram que ocorre perdas de C no tratamento de maior intensidade de pastejo (10 cm) e aumento de C no sistema nas intensidades moderadas (20 e 40 cm) e no tratamento que não foi pastejado.

Após o cultivo da soja, o CBM no tratamento IP-40 de altura de pastagem foi superior em relação aos tratamentos IP-10 e IP-20, e não diferiu dos tratamentos IP-30 e SP (Quadro 3). Ao contrário do que foi verificado na avaliação realizada após o período de pastagem, o tratamento de maior intensidade de pastejo IP-10 apresentou os menores valores de CBM, diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos. Contrariamente ao ocorrido no ciclo da pastagem, no ciclo da soja foram observadas as temperaturas mais elevadas (Figura 3.1), que com a baixa proteção do solo, provocado pela alta intensidade de pastejo no tratamento IP-10, provocou aumento da temperatura do solo, diminuição da umidade, com consequente diminuição da biomassa microbiana. Dessa forma, o tratamento com maior altura de pastagem e com menor intensidade de pastejo (IP-40), provavelmente proporcionou menor perda de água e menor temperatura do solo, favorecendo a biomassa microbiana, fato também observado por Mercante et al. (2008) para diferentes sistemas de manejo envolvendo diferentes intensidades de cobertura e por Souza et al. 2010 em condições semelhantes a deste trabalho. Esse comportamento também foi verificado por Souza et al. (2010), em condições de déficit hídrico, onde a maior intensidade de pastejo apresentou redução para os teores de CBM.

De acordo com Chavéz et al. (2011), outro fator é que a alta intensidade de pastejo aplicada durante o ciclo da pastagem reduz a quantidade de resíduos na superfície do solo para a próxima cultura. Segundo Assmann et al. (2008), para uma boa manutenção de resíduos do solo e um bom manejo do plantio direto sem prejudicar o sistema são necessários 2.000 kg ha⁻¹ de matéria seca, aproximadamente, ou seja, em torno de 15-20 cm de altura para o caso de pastagens de aveia e/ou azevém. E, para solos com baixo teor de argila, como o deste trabalho, são necessários 9.000 kg ha⁻¹ de matéria seca para manter o estoque inicial de C no solo (VIEIRA, 2007).

Utilizando o tratamento SP como referência, observa-se aumento de 159 % nos valores de CBM após a pastagem, para o tratamento IP-20, e mesmo sem diferenças significativas, os valores de CBM entre os tratamentos IP-10, IP-30 e IP-40 seguiram a mesma tendência, com valores superiores ao SP em 79, 53 e 48 %, respectivamente (Figura 3.2). Já, após o cultivo da soja observa-se que somente o tratamento com maior altura de pastejo, IP-40, manteve os valores de CBM superior (18 %) ao tratamento SP. Os tratamentos IP-10, IP-20 e IP-30 obtiveram valores de CBM inferiores ao tratamento SP em 38, 10 e 2 %, respectivamente (Figura 3.2).

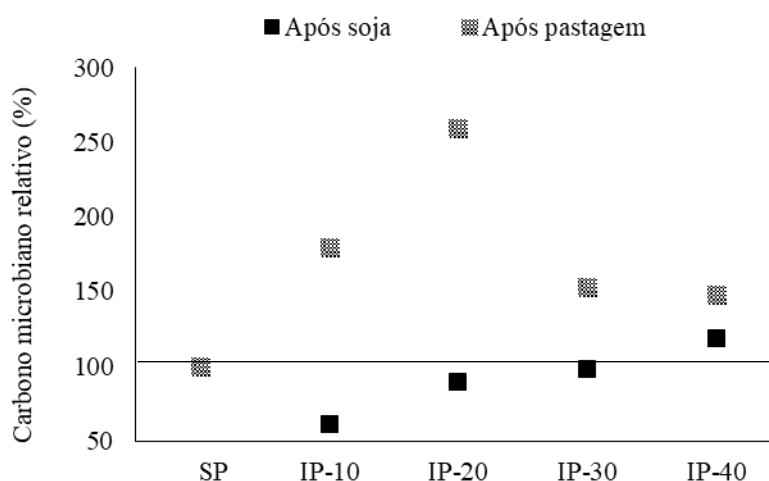


Figura 3.2- Carbono microbiano relativo* em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, em sistema de integração lavoura-pecuária, em diferentes intensidades de pastejo, na profundidade de 0 a 10 cm, conduzido na estação experimental do IAPAR no município de Xambê, PR. * $IP \times 100/SP$, para cada tratamento de pastejo em cada cultivo.

Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de respiração microbiana (RM) entre os tratamentos nas avaliações após pastagem e após soja (Tabela 3.3). Em estudo com diferentes sistemas de manejo, incluindo pastagem plantada com *Brachiaria decumbens*, plantio direto e convencional no sul de Goiás, D'Andréa et al. (2002) também não encontraram diferenças significativas nos valores de respiração microbiana na camada 0-10 cm. Esses autores justificaram a ausência de diferença entre os tratamentos pela recente implantação do sistema de plantio direto (entre quatro e cinco anos) onde a biomassa microbiana pode estar ainda em adaptação às condições do solo. Nesse trabalho, a recente instalação do sistema ILP (dois anos) também pode justificar a ausência de diferença entre os tratamentos. No entanto, deve-se levar em consideração as diferenças climáticas entre os Cerrados e a região sul do Brasil que influenciam diretamente a dinâmica do carbono e a atividade dos micro-organismos do solo. Uma vez que em trabalhos desenvolvidos na região Sul (BALOTA et al 1998; CERVANTES, 2012), os valores de RM foram elevados no plantio direto, pode-se supor que valores mais elevados de RM e diferenças entre os tratamentos possam ocorrer ao longo do tempo.

O qCO_2 apresentou diferença significativa ($p < 0.05$) entre os tratamentos IP-20 e SP na avaliação após pastagem. No tratamento IP-20, o valor de qCO_2 foi 1,64 vezes menor, em relação aos valores na área sem pastejo (Tabela 3.3). Após a soja não houve diferença significativa entre os tratamentos para os valores de qCO_2 . Mercante et al. (2008) e Carneiro et al. (2009), relataram que quanto menor o qCO_2 , menos C é perdido com CO_2 pela respiração,

mais eficiente é a biomassa microbiana na utilização de compostos orgânicos, incorporando mais carbono aos tecidos microbianos. Dessa forma, solos com baixos valores de $q\text{CO}_2$ estão próximos ao equilíbrio, sendo que maiores valores são encontrados em ambientes estressantes, onde ocorre maior consumo de carbono para a manutenção da biomassa microbiana. Carneiro et al. (2009) observaram menores valores de $q\text{CO}_2$ em área de integração lavoura-pecuária em relação a área nativa do cerrado. O mesmo resultado foi verificado por Souza et al. (2010) em um experimento de longa duração, com diferentes intensidades de pastejo. No tratamento IP-20, conforme já mencionado, ocorre uma abundância de material facilmente decomponível, refletindo na alta eficiência dos micro-organismos em converter os resíduos orgânicos depositados em biomassa microbiana, na área sem pastejo, os resíduos vegetais estão mais bem distribuídos e menos decompostos pelos micro-organismos, em relação as áreas pastejadas.

Após o ciclo da pastagem, somente para a enzima celulase foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 3.4). A área sem pastejo (SP) apresentou a menor atividade, e foi 1,45 vezes menor ($6,47 \mu\text{g AR g}^{-1}$) que os demais tratamentos (média de $11,85 \mu\text{g AR g}^{-1}$). Considerando a espécie de gramínea instalada mais a presença de animais na área, que aumentam a reciclagem via dejetos sugerindo entrada de substrato enriquecido em celulose no agrossistema, acredita-se que, esses fatores contribuirão para os valores da atividade da celulase após pastagem serem superiores nos tratamentos IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40, em relação a SP.

Após o ciclo da soja somente os tratamentos IP-30 e SP se diferenciaram significativamente ($p < 0,05$) para a atividade da arilsulfatase, com maior atividade em IP-30 ($4,74 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) e SP ($4,47 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) e menor atividade no IP-10 ($2,51 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (Tabela 3.4). Nogueira & Melo (2003) encontraram correlação positiva entre a atividade da arilsulfatase e os teores de S total do solo, que está em sua maior parte na matéria orgânica. Dessa forma, evidencia-se que a maior atividade enzimática geralmente está relacionada com maiores teores de C orgânico, que por sua vez contém a maior parte dos substratos sobre os quais atuam as enzimas. A atividade dessa enzima neste trabalho foi semelhante aos verificados por Balota et al. (2014) em Latossolo Vermelho distrófico com teores variando entre 2, 3 a $15 \mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para solo argiloso.

Tabela 3.4- Atividade enzimática da arilsulfatase, fosfatase ácida, β -glucosidase, celulase e fosfatase ácida, em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade de 0 a 10 cm.

IP*	Arilsulfatase	Fosfatase ácida	β -Glucosidase	Celulase	FDA
		$\mu\text{g PNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$		$\mu\text{g AR g}^{-1}$	$\mu\text{g F g}^{-1}$
	Após pastagem				
IP-10	9,51 a	282,77 a	47,59 a	12,02 a	59,86 a
IP-20	8,81 a	275,34 a	41,26 a	11,40 ab	70,34 a
IP-30	10,49 a	287,30 a	46,36 a	11,68 a	71,34 a
IP-40	9,23 a	293,01 a	43,08 a	12,09 a	53,81 a
SP	9,70 a	289,35 a	47,63 a	6,47 b	53,09 a
CV%	18,87	9,31	17,12	17,03	16,27
	Após soja				
IP-10	2,51 c	109,22 a	26,24 a	8,69 a	111,20 a
IP-20	3,41 bc	141,82 a	32,17 a	7,85 a	115,10 a
IP-30	4,74 a	138,18 a	31,12 a	8,94 a	122,81 a
IP-40	3,25 bc	149,14 a	32,13 a	6,73 a	118,19 a
SP	4,47 ab	142,02 a	33,16 a	8,96 a	121,52 a
CV%	12,28	14,37	12,27	28,43	6,37

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) de probabilidade. *-determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP- 10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP: sem pastejo.

A atividade da enzima fosfatase ácida ficou bem abaixo dos valores da literatura (BALOTA et al., 2014; CERVANTES, 2012) e variou entre 275,34 a 293,01 $\mu\text{g PNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$, na avaliação realizada após a pastagem e de 109,22 a 149,14 $\mu\text{g PNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$, na avaliação realizada após o cultivo da soja. Esses resultados podem estar relacionados à aplicação de P_2O_5 realizada no experimento, uma vez que a enzima fosfatase ácida é produzida quando os teores de P solúvel atingem níveis limitantes ao crescimento de plantas e micro-organismos do solo (TRANNIN et al., 2007). Como a adubação fosfatada promove aumento dos teores de P no solo, a atividade da fosfatase pode ser reduzida em solos que recebem adubação fosfatada (TABATABAI, 1994). Esses resultados também foram verificados por Carneiro et al. (2004) no cerrado e por Conte et al. (2002) no sul do Brasil. No entanto, estudos de rotação de culturas, em Ponta Grossa (PR) mostraram valores elevados da fosfatase ácida, entre 799,1 a 489,9 $\mu\text{g PNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$, atribuído a aplicação localizada nos sulcos de semeadura de fertilizantes fosfatados, uma vez que o fósforo é facilmente fixado nos coloides e óxidos de ferro e de alumínio do solo, o que reduz o seu efeito inibidor sobre a atividade da fosfatase (CERVANTES, 2012). Dessa forma, mesmo com adições de fertilizantes fosfatados ao solo, o fósforo orgânico proveniente da matéria orgânica do solo pode ser disponibilizado às

plantas pela atividade da fosfatase ácida. Isso demonstra que, mesmo em áreas cultivadas, os micro-organismos e as exoenzimas produzidas têm seu papel na disponibilidade de fósforo às plantas.

Não houve diferença ($p < 0,05$) na atividade da enzima β - glucosidase e da FDA entre os tratamentos, nas duas épocas de amostragens (Tabela 3.4). Os resultados obtidos com a atividade da enzima β - glucosidase, podem estar relacionados com a complexidade dos resíduos nas áreas de integração lavoura-pecuária, com a gramínea, a leguminosa e a presença de animais, uma vez que essa enzima utiliza como substrato resíduos de menor complexidade (MATSUOKA et al., 2003). Em estudo realizado por Silveira (2007) em 11 solos do Rio Grande do Sul entre áreas cultivadas e nativas, também não foi observada diferença na atividade da FDA, demonstrando que a hidrólise de FDA não foi sensível para avaliar diferenças entre os solos em estudo.

Após dois ciclos de pastagem com diferentes intensidades de pastejo e dois de soja, observa-se que intensidades de pastejo moderada, IP-20, IP-30 e IP-40, promovem aumento dos teores de CBM com alta eficiência dos micro-organismos em converter resíduos orgânicos em biomassa microbiana. Já, em alta intensidade de pastejo, IP-10, ocorre a redução dos teores de CBM. Dessa forma, os sistemas de ILP em plantio direto, com diferentes intensidades de manejo de pastagem, resultarão ao longo do tempo em adições diferenciadas de resíduos vegetais e animais ao solo, sendo possível selecionar um conjunto de variáveis relacionados com a ciclagem de nutrientes que indiquem a qualidade do solo. Dentre os indicadores microbiológicos estudados, os mais sensíveis foram o carbono da biomassa microbiana, $q\text{CO}_2$ e a atividade das enzimas arilsulfatase e celulase.

3. 5 CONCLUSÕES

- 1- Os teores de CBM do solo na pastagem foram favorecidos pela inserção dos animais no sistema.
- 2- Alta intensidade de pastejo (10 cm de altura da pastagem) durante o ciclo da pastagem pode provocar redução no C da biomassa microbiana do solo, com efeito negativo sobre a mesma na cultura sucessora.
- 3- Dentre as enzimas avaliadas, somente a arilsulfatase e celulase foram sensíveis para avaliar o manejo ILP. Com diferenças entre os tratamentos com intensidade moderada de pastejo (IP-20) e a área sem pastejo.

4 ARTIGO B: MUDANCAS NA ESTRUTURA DA COMUNIDADE BACTERIANA NO SOLO INFLUENCIADAS POR UM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA

4.1 RESUMO

A mudança do uso do solo pode ter impactos significativos nas condições do solo e na composição das comunidades bacterianas que provavelmente responderão a essas mudanças. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a comunidade bacteriana em sistema ILP, em diferentes intensidades de pastejo e sem pastejo comparados com uma área nativa para compreensão do efeito da introdução de um sistema agrícola ILP, na estrutura e diversidade da comunidade bacteriana. Este estudo foi realizado a partir de amostras de solo coletadas em um experimento de Integração Lavoura-Pecuária, na estação experimental de Xambrê-PR. O DNA total de cada amostra ambiental foi extraído e após a extração foi realizada a amplificação da região V4 do gene 16S rRNA. Posteriormente as amostras foram sequenciadas no sequenciador *Ion Torrent PGM*. Foram verificadas sequências correspondente a 24 Filos bacterianos, porém em todos os tratamentos predominaram sequências de bactérias não classificadas, cerca de 40% das sequências geradas com destaque na área de mata nativa. Entre os Filos identificados nas amostras, os mais abundantes foram Proteobacteria, Acidobacterias, Firmicutes e Verrucomicrobia. As comunidades bacterianas do solo foram significativamente alteradas com a implantação de um sistema ILP, especialmente pela adição de fertilizantes inorgânicos no solo. Ainda são necessários estudos para compreender como a disponibilidade dos nutrientes selecionam e modelam as estruturas das comunidades bacterianas do solo sob diferentes sistemas agrícolas.

Termos de indexação: Diversidade microbiana, sistema de produção, bactérias, intensidade de pastejo.

4.2 INTRODUÇÃO

A necessidade de conversão de matas nativas em áreas agrícolas para a produção de alimentos, altera as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (referencia). Geralmente essa ação envolve a remoção completa da vegetação seguida por cultivos que mudam completamente a cobertura e diversidade vegetal, alteram a entrada nutrientes, a umidade e a temperatura no solo (FIERER et al., 2013).

Muitos estudos têm sido direcionados para avaliar como as práticas agrícolas influenciam a estrutura e diversidade de comunidades microbianas no solo (CHABRERIE et al., 2003; CLEGG et al., 2006; GRAYSTON et al., 2004; LARKIN, 2003). O monitoramento da diversidade e composição dos micro-organismos em solos modificados por atividades agrícolas é necessário para manutenção da qualidade do solo.

Essa qualidade está interligada aos micro-organismos, que, por apresentarem características como abundância, atividades bioquímicas e metabólicas, são sensíveis para detectar alterações nesse ambiente decorrentes do seu uso e manejo (SIX et al., 2006). Portanto, a recuperação quantitativa e qualitativa de micro-organismos a partir de amostras ambientais é essencial para entender o funcionamento do ecossistema (TAYLOR et al., 2002).

A prática agrícola integração lavoura-pecuária (ILP), que refere-se a uma associação entre cultivos agrícolas e produção animal utilizada em diferentes partes do mundo, tem se mostrado uma alternativa eficaz na manutenção e/ou recuperação do equilíbrio das características do solo (CARVALHO et al., 2005). Todavia, como toda prática agrícola, o sistema ILP ocasiona alterações no solo, pois interfere na ciclagem e a disponibilidade de nutrientes para a planta. Alterações na disponibilidade de nutrientes interferem na seleção taxonômica de micro-organismos, uma vez que estes desempenham diversos papéis nos ciclos biogeoquímicos, como do carbono, nitrogênio, enxofre, fósforo (FITTER et al., 2005).

Diversas estratégias têm sido usadas para estudar as relações entre funcionamento de ecossistemas e respostas das comunidades microbianas. Os maiores esforços são para entender como a implantação de práticas agrícolas modificam a taxonomia e funções-chave de membros específicos da comunidade (BENNDORF et al., 2007).

No solo ocorre uma ampla e complexa diversidade microbiana, porém ainda pouco conhecida. Os avanços dos estudos moleculares favoreceram a avaliação dos micro-organismos em amostras ambientais, tem auxiliado na organização da sistemática destes seres vivos (TSCHERKO et al. 2003; STRALIOTTO; RUMJANEK, 1999). O sequenciamento do gene codificador da subunidade 16S do RNA ribossomal (16S RNAr), ultimamente e o mais utilizado em estudos de diversidade, por ser universalmente distribuído nos organismos procariotos é pouco afetado por mutações ou transferência horizontal de genes (DAUBIN et al., 2003).

Assim, este trabalho tem como objetivo compreender o efeito de um sistema agrícola ILP na estrutura e diversidade da comunidade bacteriana do solo.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado a partir de amostras de solo coletadas em um experimento de Integração Lavoura-Pecuária, na estação experimental de Xambrê-PR, do Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR). A região apresenta clima subtropical com coordenadas

geográficas 23° 44' 10" S e 3° 29' 24" W e 418 m de altitude. A temperatura média anual local é de 20,8 ° C, e a precipitação média é de 1430 mm. O solo é classificado como LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico de acordo com o descrito em Embrapa (2013), com 15 % de argila, 5 % de silte e 80 % de areia.

O experimento foi instalado em 2010, com 15 parcelas experimentais de 1,0 ha cada, utilizando-se a pastagem de *Brachiaria ruziziensis* no inverno, que recebeu fertilização em superfície 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples, aos 25 e 50 dias após o plantio, e também 50 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia. A entrada de bovinos para o pastejo ocorreu após a forrageira atingir em média 30 cm de altura, utilizado-se o método de pastejo contínuo, com carga animal variável, por meio da utilização da técnica *put and take*, descrita por Mott; Lucas (1952). Após a retirada dos animais, a pastagem foi dessecada e realizado o cultivo da soja em sistema plantio direto, com a aplicação superficial de 60 kg ha⁻¹ de K₂O e, de 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅, como superfosfato simples, no plantio.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com três repetições. A área agrícola sob sistema ILP constitui de quatro intensidades de pastejo (IP) sendo IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40 correspondentes a altura em cm (10, 20, 30 e 40 cm respectivamente) da pastagem remanescente após o pastejo animal na área e de uma área sem pastejo (SP). Como referência das condições originais do solo uma área de vegetação nativa (AR) próxima à área experimental foi utilizada indicando as condições originais dos solos.

Em outubro de 2013, após o quarto cultivo da pastagem, foram realizadas amostragens na camada de 0-10 cm, em 10 pontos por parcela, formando uma amostra composta e representativa por tratamento. As amostras foram homogeneizadas, passadas por uma peneira de malha 4 mm e armazenadas a temperatura de 7 °C ± 3 °C, até a avaliação. A caracterização química realizado segundo (PAVAN et al., 1992) no momento da coleta e apresentada na Tabela 4.1.

Tabela 4.1- Características químicas de LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade 0-10 cm, conduzido na estação experimental do IAPAR no município de Xambrê, PR.

IP*	P	C	pH	Al	Ca	K	Mg	S	CTC
	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	cmol _c dm ⁻³ de solo						
	Após pastagem								
IP-10	26,10	5,13	4,87	0,10	1,76	0,91	0,11	2,79	6,39
IP-20	23,47	6,35	4,63	0,19	1,58	0,71	0,14	2,43	6,20
IP-30	36,77	6,22	4,87	0,10	1,76	0,79	0,19	2,73	6,16
IP-40	24,20	5,56	4,67	0,21	1,46	0,82	0,08	2,35	6,37
SP	30,73	6,41	5,00	0,10	2,06	0,97	0,10	3,13	6,32
AR	7,87	8,20	4,70	0,22	1,91	0,14	0,87	2,93	9,25

Onde, P (Mehlich), C (Walkley-Black), pH (CaCl₂), Ca (KCl), Mg (KCl), K (Mehlich). Ca (cálcio); Mg (magnésio), K (potássio); S (soma de bases); CTC (Capacidade de Troca Catiônica); Al (saturação por alumínio); Médias de 3 repetições. *- determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo e AR- Área referência – Mata.

Para a extração do DNA total do solo foi utilizado o kit MOBIO Powersoil DNA Isolation (MOBIO Laboratories INC., Carlsbad, CA, EUA), conforme instruções do fabricante. A qualidade do DNA foi verificada por eletroforese em gel de agarose 1 % (m/v) com coloração por Brometo de etídio e visualização em luz UV. Após a extração foi realizada a amplificação da região V4 do gene 16S rRNA (300-350 pb) utilizando o conjunto de primers 515f (GTG CCAGCM GCC GTAA GCG) e 806r (GGA CTA CHV GGGTWT CTA AT) conforme o protocolo descrito por Caporaso et al. (2011). Ao iniciador *forwad* foi adicionado a extremidade 3' um adaptador PMG *sequencing* e uma *tag* de identificação (barcode) composta por cinco nucleotídeos o que possibilita a identificação das amostras pós-sequenciamento.

Os fragmentos amplificados foram purificados com o *kit* de purificação ChargeSwitch[®] PCR Clean-Up Kit (Invitrogen, Life Technologies), seguindo os procedimentos recomendados pelo fabricante, e quantificados usando o Qubit ds DNA BR Assay Kit (Invitrogen, Life Technologies). Quantidades equimolares dos fragmentos obtidos e purificados de cada amostra foram submetidos à reação de em-PCR (reação em cadeia da polimerase em emulsão) para conectá-los à esferas (Ion Sphere) utilizando o Ion PGM[™] 200 Xpress[™] Template *Kit* seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante. A qualidade da

amplificação de emulsão foi confirmada em gel de agarose 2,0%, seguida de uma nova purificação de Agencourt® AMPure® XP Reagent e estante magnética, seguindo as recomendações do fabricante *Life Technologies – Ion Amplicon Library Preparation (Purify the amplicon libraries)*. Posteriormente as amostras foram sequenciadas no sequenciador *Ion Torrent PGM* utilizando o *kit Ion Sequencing Kit User Guide v 2.0*.

As sequências obtidas foram filtradas com o programa Seqyclean 1.3.12 (<http://cores.ibest.uidaho.edu/software/seqyclean>) removendo sequências com escore de qualidade Phred menor que 20 e tamanhos menores que 50 pb.

As análises das sequências foram realizadas usando o programa QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) versão 1.8.0 (CAPORASO et al., 2010b). As sequências foram checadas quanto à ocorrência de quimeras e estas foram removidas utilizando-se o programa ChimeraSlayer (HAAS et al., 2011) e então agrupadas em Unidades Taxonômicas Operacionais (UTOs) a um nível de identidade de 97% usando UCLUST, e a sequência mais abundante foi escolhida como representativa de cada UTO. As sequências representativas de cada UTO foram alinhadas usando Py NAST (CAPORASO et al., 2010a) e classificadas pelo RDP Classifier utilizando-se o Ribosomal Database Project (RDP) e a árvore filogenética foi construída pela ferramenta Fast Tree (Price et al., 2009). Foram estimados os valores de cobertura para avaliar a suficiência amostral (CHAO; LEE, 1992), o número de espécies observadas em cada amostra (Chao, 1984), os parâmetros de diversidade Chao I e Shannon (CHAO; SHEN, 2003)

Após obter o perfil taxonômico da comunidade bacteriana das amostras foram realizadas análises comparativas pelo programa STAMP-Statistical Analysis of Metagenomic Profiles (PARKS; BEIKO, 2010). Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e um teste t de Whith com medida não paramétrica. A Análise de Componentes Principais (PCA) pela métrica UniFrac foi utilizada para identificar os principais componentes de variações entre as amostras.

4.4 RESULTADOS

O sequenciamento da região V4 do gene 16S RNAr possibilitou a avaliação do perfil taxonômico dos grupos bacterianos encontrados no solo submetido as diferentes intensidades de pastejo animal e na área de mata nativa (Figura 4.1). Essa análise gerou um conjunto de sequências (em média 60 mil por amostra), com um fragmento de aproximadamente 85pb. A

análise taxonômica das sequências permitiu a classificação de 24 Filos bacterianos, porém em todos os tratamentos predominaram sequências de bactérias não classificadas, cerca de 40% das sequências geradas (Figura 4.1) com destaque na área de mata nativa (Figura 2). Entre os Filos identificados, os mais abundantes foram Proteobacteria (20%), Acidobacterias (13%), Firmicutes (10%) e Verrucomicrobia (8,5%), independente dos tratamentos (Figura 4.1).

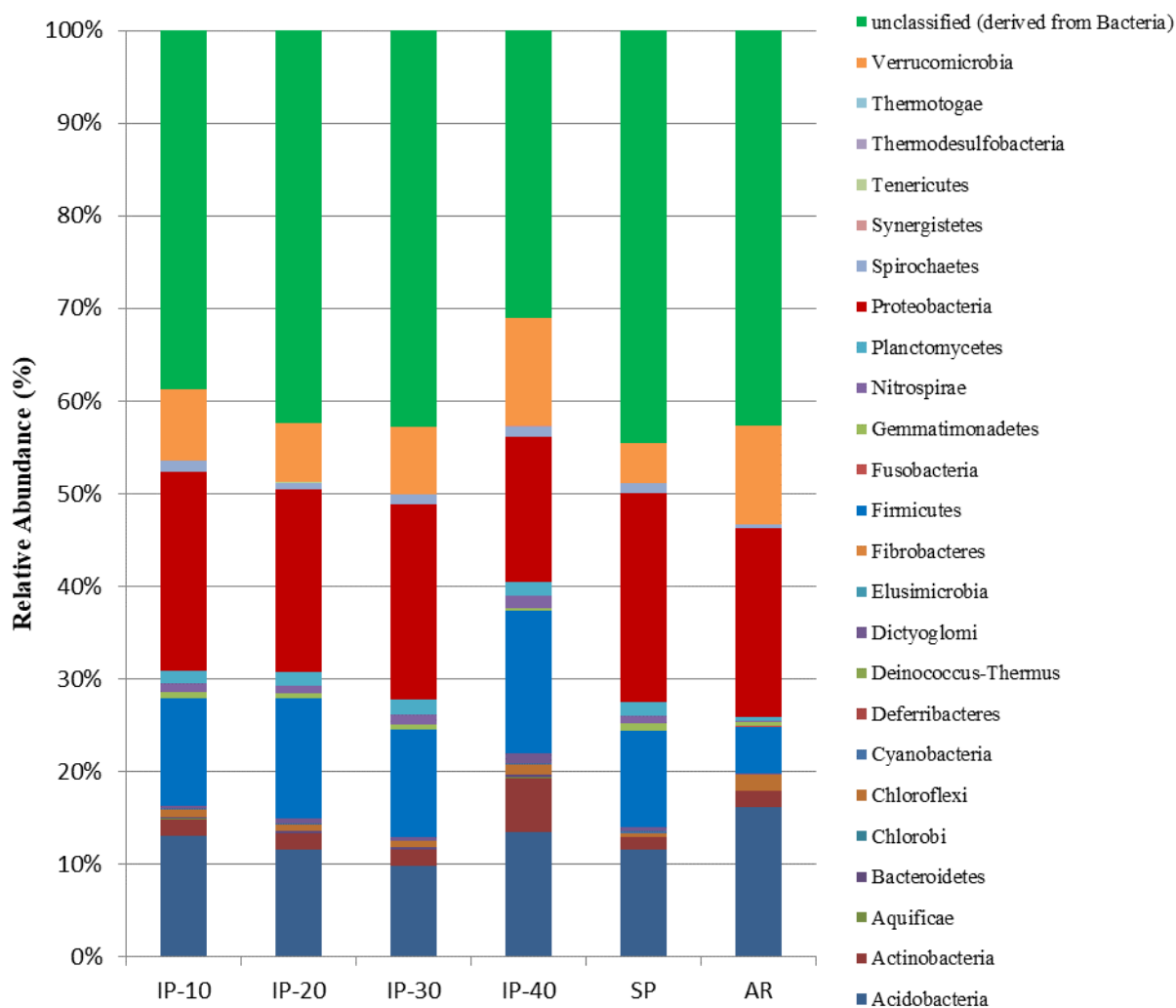


Figura 4.1- Abundância relativa dos diferentes filios bacterianos encontrados nos tratamentos determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo e AR- área de mata nativa.

O Filo Proteobacteria ocorreu em maior frequência em área de mata nativa e sua abundância foi reduzida com a introdução de atividade agrícola (Figura 4.2). O filo foi dominado pelas classes Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Deltaproteobacteria e Gammaproteobacteria (Tabela 4.2) e as classes que ocorreram com frequência menor que 0,5% não foram consideradas neste estudo. A distribuição dessas classes foi distinta entre as

amostras. Na área de mata nativa (AR) utilizada como referência nesse estudo observou-se em maior frequência a classe Alphaproteobacteria, com número de sequências 2 vezes maior que a área sem pastejo, alta e média intensidade de pastejo (SP, IP-10, IP-20 e IP-30) e 6 vezes maior que a área de baixa intensidade de pastejo (IP-40). Os grupos Betaproteobacteria e Gammaproteobacteria, por sua vez, ocorreram em maior frequência nas áreas sem pastejo animal (SP), alta e média intensidade de pastejo (IP-10, IP-20 e IP-30), quando comparados com a área mata (AR).

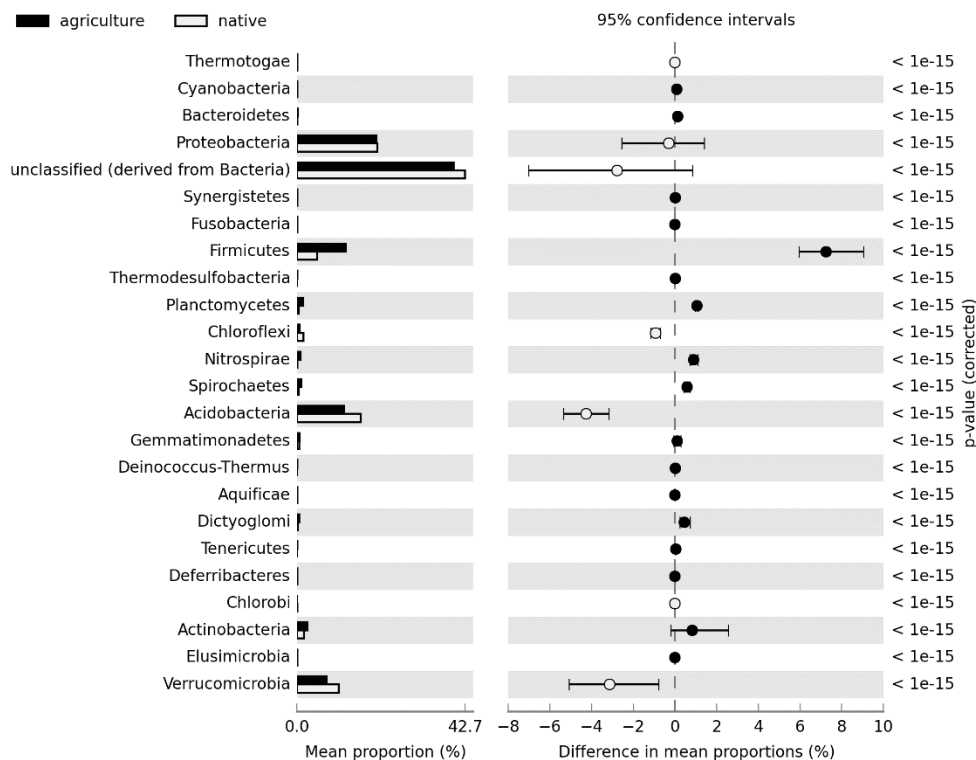


Figura 4.2- Comparação das médias de abundância dos principais filós das comunidades bacterianas, nos tratamentos determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo e AR-Area de mata nativa pelo teste t de White com medida não paramétrica.

Os Filos Acidobacteria e Verrucomicrobia ocorreram em maior abundância na área de mata nativa (AR) (Figura 4.2). As classes mais frequentes do filo Acidobacteria foram Acidobacteriia, DAO52, Solibacteres, predominantemente encontradas na área de mata e Chloracidobacteria, mais abundantes nas áreas sem pastejo (SP) e em todas as intensidades de pastejo animal (IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40) quando comparados com a área de mata (AR). Na área agrícola houve maior ocorrência de sequências relacionadas ao Filo Firmicutes (Figura 4.2) com dominância da Classe Bacilli, que apresentou maior frequência nas áreas de pastejo

animal (IP-20, IP-40, IP-10 e IP-30), seguidos pela área sem pastejo (SP) e com a menor abundância na área de mata nativa (AR).

A classe Spartobacteria, de maior ocorrência do Filo Verrucomicrobia, apresentou maior abundância na área de mata, seguida pela área de baixa (IP-40), alta (IP-10) e moderadas (IP-20 e IP-30) intensidade de pastejo animal e área sem pastejo (SP).

O número de OTU agrupadas em um nível de 97% de similaridade foi em média 14193 por tratamento, com o maior valor observado para o tratamento IP-20 e o menor valor para o tratamento AR, 15128 e 12440 OTUs respectivamente. O índice de riqueza de espécies Chao1 foi superior nas áreas com IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40 e sem pastejo animal (SP) em relação á área de referência (AR). O índice de diversidade Shannon não indicou diferença entre as diferentes intensidades de pastejo, área sem pastejo animal e área de mata referência (Tabela 4.3).

Tabela 4.2 - Classe dos Filos Proteobacteria, Acidobacteria, Firmicutes e Verrucomicrobia de maior ocorrência nos tratamentos determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo e AR- área de mata nativa.

Classe	IP-10	IP-20	IP-30	IP-40	SP	AR
Filo Proteobacteria						
Alphaproteobacteria	8.2%	8.0%	6.9%	3.3%	8.1%	18.4%
Betaproteobacteria	4.4%	4.0%	4.7%	2.1%	4.9%	3.3%
Deltaproteobacteria	0.8%	0.7%	0.8%	0.6%	0.9%	0.6%
Gammaproteobacteria	1.3%	1.2%	1.2%	0.8%	1.3%	0.9%
Filo Acidobacteria						
Acidobacteriia	3.5%	3.4%	2.6%	3.6%	3.3%	6.0%
DA052	1.2%	1.4%	1.0%	1.1%	1.2%	3.0%
Chloracidobacteria	13.5%	11.2%	13.5%	19.4%	16.0%	5.1%
Solibacteres	2.2%	1.9%	2.1%	1.8%	2.0%	2.4%
Filo Firmicutes						
Bacilli	2.8%	3.5%	2.6%	3.4%	2.0%	1.2%
Filo Verrucomicrobia						
Spartobacteria	4.2%	3.7%	3.6%	5.7%	2.1%	8.5%

Tabela 4.3- Número de Unidades Taxonômicas Operacionais (OTU) formadas (97 % de similaridade) e estimativas de diversidade e riqueza para as amostras de solo nos tratamentos determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo e AR- área de mata nativa.

Tratamentos	n° OTU	Chao1	Shannon
IP10	14798	51538	12.97
IP20	15128	53064	12.99
IP30	14389	48611	12.89
IP40	13901	44205	12.74
SP	14507	47175	12.90
AR	12440	41563	12.91

A comparação da composição das comunidades bacterianas nos tratamentos realizada pela métrica Unifrac (Figura 4.3) mostrou alta variabilidade e a explicação da variação total foi de 71,1% no eixo PC1, 24,4% no eixo PC2 e 2,7% no eixo PC3 representando de forma robusta as diferenças encontradas nas amostras. As comunidades bacterianas das áreas com diferentes intensidades de pastejo animal, área sem pastejo e de mata nativa foram espacialmente separadas. A comunidade bacteriana de áreas com intensidade moderada de pastejo animal (IP-20 e IP-30) apresentaram a estrutura com alta similaridade. Houve uma separação espacial da área de mata nativa (AR) das demais amostras com e sem pastejo animal (Figura 4.3) e foi possível observar que o tratamento sem pastejo animal (SP) apresentou uma maior aproximação de estrutura de comunidade bacteriana com os tratamentos com pastejo.

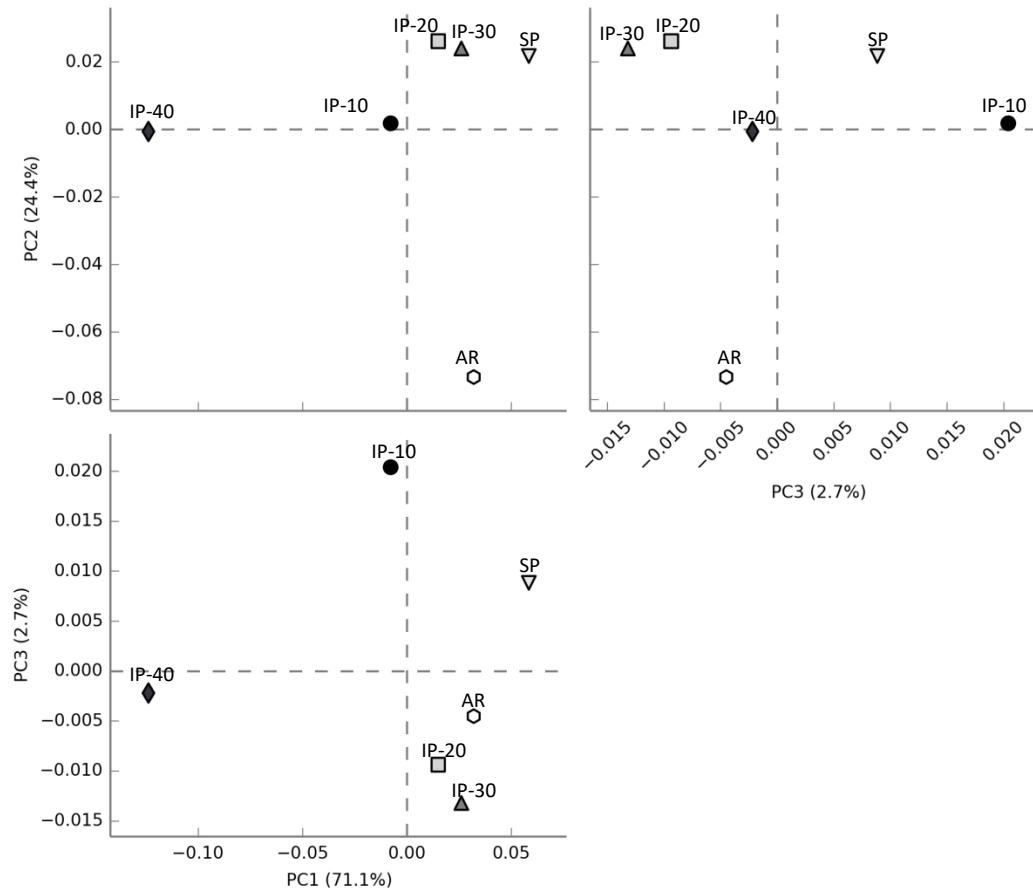


Figura 4.3- Análise de Componentes Principal (PCA) de pela métrica UniFrac da comunidade bacteriana dos nos tratamentos determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo e AR-área de mata nativa.

4.5 DISCUSSÃO

Este estudo caracterizou a comunidade bacteriana de solos em sistema de integração lavoura-pecuária com diferentes intensidades de pastejo animal, de uma área sem pastejo manejada nas mesmas condições, comparando-os com uma mata nativa. Os resultados mostraram que em todos os tratamentos houve predominância de sequências relacionadas a bactérias não classificadas. O solo é um ambiente que comporta uma alta diversidade bacteriana, mas nosso conhecimento sobre muitos filões de bactérias ainda é limitado devido à impossibilidade de isolar todos eles (STEFANIS et al., 2013). Estima-se que cerca de 99% dos micro-organismos no solo não são identificados devido a limitações nas técnicas de isolamento e cultivo (DANIEL, 2005) o que torna restrita a identificação genética desses organismos e tornam necessários os estudos de técnicas de isolamento e multiplicação de microrganismos e taxonômicos.

Os Filos de maior ocorrência identificados foram Proteobacteria, Acidobacteria, Firmicutes e Verrucomicrobia, e estão relacionados entre os nove filios de bactérias de maior ocorrência nos solos (ZHANG; XU, 2008; YIN et al., 2010). O Filo Proteobacteria de ocorrência dominante neste estudo, já foi relatado como o Filo de maior abundância em outros sequenciamentos de amostras de solo (MENDES et al., 2014; SPAIN et al., 2009). Janssen (2006) relatou que 39% da estrutura da comunidade bacteriana em vários solos estudados é representada pelo Filo Proteobacteria. Acosta-Martinez et al. (2010) relataram o filo como o mais abundante em um solo sob sistema de integração lavoura-pecuária, e observaram uma maior frequência deste também em solo no sistema integrado sob rotação pecuária-algodão em relação ao solo com cultivo contínuo de algodão. Na tentativa de associar abundância dos grupos microbianos e as condições de fertilidade do solo, Smit et al., (2001) observaram que em solos com alto teor de nutrientes disponíveis ocorre a seleção positiva de bactérias do Filo Proteobacteria, que apresentam um hábito copiotrófico (exigem alta concentração de nutrientes para o seu desenvolvimento).

Embora, neste estudo tenha sido observado a dominância do filo Proteobacteria nos diferentes tratamentos (Figura 4.1), houve distinções entre classes deste filo entre área agrícola e a área nativa. Foi nítida a maior ocorrência da classe Alphaproteobacteria na área de mata nativa. Este grupo apresenta diversos táxons com uma grande versatilidade na adaptação a uma ampla gama de ambientes e estilos de vida, pois possui uma alta diversidade metabólica, sendo encontrados em diferentes habitats como corpos hídricos, solos e plantas (PINI et al., 2011). A ocorrência deste grupo está associada à grande heterogeneidade dos solos e a alta biodiversidade encontrada em florestas sub-tropicais nativas no Brasil. A introdução do sistema agrícola na área, por sua vez, proporcionou condições para aumento dos grupos Beta e Gammaproteobacteria em relação à área de mata nativa. Vários organismos do grupo Beta e Gammaproteobacteria desempenham um papel importante no ciclo do nitrogênio, pois são conhecidos por catalisar a oxidação de amônio em nitrito, o primeiro e limitante passo do processo de nitrificação no solo (DANG et al., 2010). Coptom; Boone (2000) compararam as taxas de nitrificação e a quantidade de bactérias nitrificantes cultiváveis em solos agrícolas e de floresta e observaram que a nitrificação é altamente influenciada pela atividade agrícola e as bactérias nitrificantes foram mais abundantes nas áreas de pastagem e em solos cultivados. Portanto, os resultados deste estudo indicam que as modificações nas abundâncias dos organismos das classes das Proteobacterias em florestas e solos agrícolas podem estar relacionadas com a entrada diferenciada de nutrientes no sistema, já que em solos agrícolas há adição periódicas de fertilizantes, demonstrando como já foi

observado por Rampelotto et al., (2013) que mudanças no uso da terra podem causar alterações na presença ou ausência de grupos bacterianos específicos.

Outro padrão observado com a implantação de uma área agrícola sob sistema de ILP propiciou aumento da frequência do Filo Firmicutes e redução de Acidobacteria e Verrucomicrobia em comparação com a mata nativa. Essas alterações na estrutura da comunidade bacteriana do solo refletem o impacto ambiental causado pelas modificações decorrentes da atividade agrícola. A conversão de mata nativa em áreas de exploração agrícola modifica os processos de ciclagem dos nutrientes e decomposição da matéria orgânica, e conseqüentemente altera os teores de nutrientes no solo (FARIA et al., 2010). Solos em condições de florestas naturais geralmente são caracterizados por baixos teores de nutrientes e sua ciclagem nesses ambientes envolve uma complexa rede metabólica que mantém a funcionalidade desse ecossistema e a boa nutrição das plantas (FERREIRA et al., 2016). Em contrapartida, a remoção da floresta para a exploração agrícola, acompanhada de aplicações contínuas de fertilizantes e corretivos, tende a aumentar a disponibilidade de nutrientes no solo (CORRÊA et al., 2001). Em trabalhos realizados no sul do Brasil, Anghinoni et al., (2011), observaram que estoques de carbono orgânico total (COT) e de nitrogênio total (NT) no solo tiveram aumento com a implantação de um sistema de integração lavoura-pecuária. Em um trabalho realizado com o objetivo de estudar o efeito da adição de N nas comunidades microbianas dos solos de 28 áreas dos Estados Unidos, Ramirez et. al., (2012) verificaram que a abundância os filos Actinobacteria e Firmicutes aumentaram e os filos Acidobacteria e Verrumicrobia diminuíram. Os autores sugerem que tais variações podem ser funções das altas taxas de metabolismo da comunidade em resposta ao acréscimo de nutriente.

Organismos pertencentes ao Filo Firmicutes apresentam metabolismo caracterizado por homo e heterofermentação, assim, permitem que prevaleçam em ambientes com grande quantidade de nutrientes disponíveis e áreas com baixa competição (ZILLI et al., 2003). Mendes et al (2015) observaram maior abundância do Filo Firmicutes em áreas de pastagens quando comparado com áreas de florestas e outros sistemas agrícolas. As Acidobacterias, por sua vez, foram reconhecidas como filo há cerca de uma década e a ocorrência de sequências desse organismo em diversos estudos ambientais sugere que estes micro-organismos são componentes ecológicos significativos em diversos ecossistemas, particularmente em comunidades de solo (HUGENHOLTZ et al., 1998b). Estudos realizados por Araújo et al., (2012), revelaram abundancia desse filo em solos do cerrado com baixo pH e baixa concentração de nutrientes. Apesar de estudos mostrarem abundancia do Filo Acidobacteria

no solo (TSAI et al., 2009; YIN et al., 2010;), pouco se sabe sobre as características fisiológicas e papel funcional, uma vez que a maioria das classes desse grupo não são cultiváveis por métodos tradicionais (QUAISER et al., 2003).

O filo de Verrucomicrobia é amplamente distribuído na natureza, principalmente no solo (HEDLUND et al., 1997). Vários trabalhos relatam a presença desse filo em solos de floresta e áreas agrícolas e sua distribuição no solo é variável e sensível às mudanças ambientais e a fatores químicos do solo (KIELAK et al., 2008, BRUCE et al., 2010; PAN et al. 2014). No presente trabalho, o filo foi superior na área de mata e percebeu-se redução da sua abundância com a implantação do sistema ILP. A alta frequência de Verrucomicrobia em floresta pode ser associada à temperatura do solo, pois nesse ecossistema devido à grande diversidade vegetal é encontrada uma temperatura mais estável em relação a um solo agrícola cultivado (SAIT et al., 2006). Buckley e Schmidt (2001) mostraram que a distribuição do Filo Verrucomicrobia no solo é afetada por diversos fatores, principalmente pelas mudanças no teor de umidade e temperatura do solo. A baixa abundância de Verrucomicrobia em área agrícola já havia sido relatada em experimento de 54 anos com pastagens que recebiam adição anual de fertilizantes inorgânicos (PAN et al., 2014). Assim, verifica-se que esse grupo possui uma preferência por ambientes com disponibilidade de umidade e temperaturas estáveis e baixa concentração de nutrientes inorgânicos.

Neste trabalho foi possível observar maior riqueza de espécies nas amostras de solo com atividade agrícola quando comparadas com a área de mata nativa (Tabela 4.3). O incremento na estrutura da comunidade bacteriana em áreas agrícolas em relação à área nativa já foi relatado por Mendes et al. (2015), que observou que a floresta apresentou a menor diversidade taxonômica. O autor sugere que um ambiente em equilíbrio como a área de mata nativa é mantido por uma baixa diversidade com elevada abundância microbiana, contudo, uma área agrícola que gera um desequilíbrio ao sistema natural leva a um aumento da diversidade para que funções importantes do ecossistema não sejam perdidas.

A maior riqueza nas áreas de pastagem em relação à área de mata já foi relatada por outros autores (SHANGE et al., 2012, KOHLER et al., 2005), nos quais atribuíram a essa condição fatores relacionados à diversificação de substratos adicionados nas áreas de pastagem devido à deposição de dejetos liberados pelos animais, mais a adição significativa de resíduos da parte aérea da pastagem plantada de *Brachiaria ruziziensis*, que estimula a biomassa microbiana em decorrência da liberação de substâncias orgânicas.

Ao considerar a composição das comunidades bacterianas sob a área de mata (AR) e nas áreas agrícolas com e sem pastejo animal, é notável que ocorre uma diferença

significativa entre suas estruturas. A similaridade da comunidade bacteriana das áreas sob intensidades moderadas de pastejo (IP-20 e IP-30) (Figura 4.3) que indica homogeneidade nas modificações bioquímicas do solo causadas pelo sistema e a separação espacial da estrutura das comunidades em decorrência das diferentes intensidades de pastejo animal e área sem pastejo demonstram que as alterações microbiológicas são reflexos, não apenas da remoção da vegetação nativa, mas também do nível e da intensidade da exploração agrícola. Diferentes intensidades de pastejo animal resultam em quantidades diferenciadas de resíduos disponibilizados no solo (GARLAND, 1996) e pode trazer alterações na funcionalidade dos grupos microbianos, como observado por Chávez et al. (2011) que verificou diferença na diversidade metabólica da comunidade microbiana do solo em sistema de integração lavoura pecuária com diferentes intensidades de pastejo e área sem pastejo.

Como a integração lavoura pecuária é uma alternativa de prática agrícola, seja para minimizar os problemas dos solos cultivados, ou para recuperar pastagens degradadas (ANGHINONI et al., 2011), com este estudo foi possível entender as mudanças que ocorrem na comunidade bacteriana com a implantação de uma área agrícola sob esse sistema em relação ao seu ecossistema natural. Nossos dados indicam claramente uma seleção de uma microbiota particular com a implantação de um sistema ILP e essa seleção parece refletir a influência da entrada de nutrientes inorgânicos no solo. Ainda são necessários estudos para compreender como a disponibilidade dos nutrientes selecionam e modelam as estruturas das comunidades bacterianas do solo sob diferentes sistemas agrícolas.

5 ARTIGO C: ATRIBUTOS FÍSICOS E COMUNIDADE BACTERIANA DE SOLO SOB SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA

5.1 RESUMO

Em um sistema de integração lavoura-pecuária (ILP), a intensidade de pastejo aplicada é responsável pela eficiência do sistema, pois interfere em importantes atributos físicos do solo, como a estrutura e agregação, o que além de afetar a produtividade e sustentabilidade, interfere diretamente na composição da comunidade bacteriana. Assim, este trabalho tem como objetivo verificar a influência de diferentes intensidades de pastejo nos atributos físicos e consequentes alterações na comunidade bacteriana do solo. O estudo foi desenvolvido em um experimento conduzido em um sistema de ILP cultivado com soja no verão e *Brachiaria ruziziensis* no outono-inverno como pastagem para bovinos com diferentes intensidades de pastejo: 10, 20, 30 e 40 cm de altura da pastagem remanescente e uma área sem pastejo. Amostras de solo com estrutura preservada foram coletadas na camada 0-10 cm. Em laboratório, determinou as propriedades físicas (umidade, densidade e porosidade macro, micro e total). A composição da comunidade bacteriana das amostras foi acessada pelo

sequenciamento parcial do gene 16S rRNA e a significância das propriedades físicas sobre a estrutura da comunidade bacteriana foi examinada. Com o aumento da intensidade de pastejo animal observou-se incremento na macroporosidade e a porosidade total do solo. Nas áreas sob pastejo animal predominou-se os Filos Acidobacteria, Actinobacteria, Firmicutes e Verrucomicrobia que apresentaram correlação negativa com macroporosidade e densidade do solo e correlação positiva com porosidade total e microporosidade. A diversidade da comunidade bacteriana não foi alterada com o pastejo animal, mas houve alterações nos táxons bacterianos que compõem o solo no sistema ILP.

Palavras-chave: *pastejo; porosidade; sequenciamento, diversidade microbiana.*

5.2 INTRODUÇÃO

A Integração Lavoura-Pecuária (ILP), sistema de produção que alterna na mesma área o manejo das plantas e dos animais, é reconhecida como opção para a intensificação da produção com sustentabilidade (CARVALHO et al., 2005). No âmbito global, a ILP apresenta perspectivas promissoras e a FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*) reconhece que esse sistema incrementa a resiliência ambiental, através do aumento da diversidade biológica, maior ciclagem de nutrientes, melhoria da qualidade do solo e provimento de serviços ecossistêmicos, com consequente contribuição para a mitigação das mudanças climáticas (ANGHINONI, et al., 2011).

O cultivo de soja no verão e forrageiras no inverno em sistema ILP tem sido explorado em diferentes condições edafoclimáticas. Em regiões mais quentes e de solos de baixa fertilidade, o maior desafio é estabelecer um sistema ILP visando reformar as pastagens degradadas, devido ao esgotamento da fertilidade do solo e o manejo inadequado das plantas, evitando a degradação do solo (FRANCHINI et al., 2014; ALVES, 2011).

No entanto, o sucesso do sistema ILP está ligado à intensidade de pastejo empregada, uma vez que ela é responsável pela mudança na estrutura do pasto. Consequentemente, o manejo dos animais, das pastagens e das culturas agrícolas influencia as interações dos componentes químicos, físicos e biológicos do solo (ASSMANN et al., 2008).

Dentre as propriedades físicas do solo sujeitas a alterações pela presença dos animais, os indicadores macro e microporosidade (CARVALHO et al., 2009) merecem especial atenção, pois refletem os efeitos negativos da forte pressão sobre o solo quanto submetido ao pisoteio excessivo, o que a médio prazo provoca compactação e desagregação, diminuindo sua qualidade (PARENTE; MAIA, 2011).

O sistema ILP promove na área uma heterogeneidade espacial que é decorrente do uso do pasto pelos animais (ANGHINONI et al., 2011). Desta forma, as mudanças na estrutura e agregação do solo criam um grande número de nichos funcionais conferindo a este, heterogeneidade no tempo e no espaço, o que afeta diretamente a composição da comunidade

bacteriana no solo (TORSVIK, et al., 1998). Estudos para analisar a distribuição espacial de bactérias mostraram que mais de 80% delas habitam os microporos de microagregados estáveis (2-20 μm) do solo. Estes micro-habitats oferecem condições favoráveis para o crescimento microbiano quanto à disponibilidade de água e substrato, difusão de gases e proteção contra predação (TORSVIK; ØVREÅS, 2002). Alterações nesses micro-habitats podem destruir alguns nichos funcionais, perturbar interações biológicas equilibradas e resultar em perda da diversidade do solo (TORSVIK, et al., 1998).

O solo comporta uma alta diversidade genética de organismos que possuem funções ecológicas específicas catalisando partes de todos os processos biogeoquímicos que ocorrem nesse ambiente (MATOS, 2015), e que são de extrema importância para a manutenção da vida na Terra. É reconhecido que os micro-organismos alteram a estrutura do solo, no entanto, poucos estudos relatam como mudanças na estrutura física do solo modificam a estrutura das comunidades microbianas (CROWFORD et al., 2012). Em sistemas de produção integrados, para se compreender seus efeitos no solo são necessárias avaliações conjuntas de seus componentes físicos e biológicos e também sobre sua atividade funcional. Assim, torna-se essencial, além de conhecer a composição da comunidade microbiana do solo, entender como as atividades destas comunidades respondem a mudanças nas propriedades físicas do solo provocadas pelo manejo de componentes dos sistemas agropecuários integrados (KEISER, et al., 2011).

Assim, este trabalho tem como objetivo verificar a influência de diferentes intensidades de pastejo nos atributos físicos e consequentes alterações na comunidade bacteriana do solo.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e amostragem

Este trabalho foi desenvolvido em uma área de integração lavoura-pecuária em sistema plantio direto na estação experimental do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), no município de Xambrê, coordenadas geográficas 23° 44' 10" S e 3° 29' 24" W e 418 m de altitude. O solo é classificado como Latossolo Vermelho distrófico típico, com 15 % de argila, 5 % de silte e 80 % de areia. O clima da região, segundo a classificação de *Köppen*, é Cfa, subtropical (CAVIGLIONE et al., 2000).

O histórico de uso agrícola da área foi cultivo com soja (*Glycine max*) no verão e aveia (*Avena sativa*) no inverno, sem pastejo animal nas safras agrícolas de 2005/2006, 2006/2007 e

2008/2009. Em maio de 2010, a área foi preparada e dividida em três blocos e distribuídas as 15 parcelas experimentais de 1,0 ha com pastagem de *Braquiária ruziziensis*, a qual recebeu em superfície 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples, aos 25 e 50 dias após o plantio, e 50 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia. A entrada dos animais para pastejo ocorreu em maio de 2010 quando a forrageira atingiu, em média, 30 cm de altura. Após a retirada dos animais, em setembro de 2010, a pastagem foi dessecada e a semeadura da soja realizada em plantio direto, em outubro de 2010, com a aplicação superficial de 60 kg ha⁻¹ de K₂O, de 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅, e inoculação de *Bradyrhizobium* ssp. para fornecimento de N. Procedeu-se os mesmos manejos, tanto para a pastagem como para a soja, nos anos de 2011, 2012 e 2103.

Para avaliar a influência do pastejo animal na estruturação do solo, na diversidade e atividade microbiana foram avaliados os tratamentos de uma área sem pastejo (SP) e quatro intensidades de pastejo (IP) sendo IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40 correspondentes a altura em cm da pastagem remanescente (10 – alta intensidade, 20 e 30 – intensidades moderadas e 40 cm – baixa intensidade de pastejo, respectivamente). Os tratamentos foram distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com três repetições, sendo a altura das pastagens obtida com ajuste da carga animal, verificado semanalmente com a entrada ou retirada de animais reguladores para manter a altura da pastagem o mais próximo da pretendida (AGUINAGA et al., 2006). O método de pastejo adotado foi o pastejo contínuo, com carga animal variável, por meio da utilização da técnica *put and take*, descrita por Mott; Lucas (1952), sendo fixa a quantidade de dois animais experimentais por parcela e o número de animais reguladores variáveis.

As amostragens de solo foram realizadas em outubro de 2013, após o terceiro cultivo da pastagem, na camada de 0-10 cm, em 10 pontos por parcela, formando uma amostra composta e representativa por tratamento para as análises biológicas. A caracterização química do solo, realizada de acordo com Pavan et al., (1992) no momento da coleta, estão apresentados na tabela 5.1. No Laboratório de Microbiologia do Solo do IAPAR, as amostras foram homogeneizadas, passadas por uma peneira de malha 4 mm e armazenadas a temperatura de 7 °C ± 3 °C, até a avaliação. Para avaliação da densidade do solo (Ds), porosidade total (Pt), macroporosidade (Ma) e microporosidade (Mi), foram coletados três anéis (100 cm³) por parcela com estrutura preservada.

Tabela 5.1- Características químicas de Latossolo Vermelho distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade 0-10 cm, conduzido na estação experimental do IAPAR no município de Xambê, PR.

IP*	P	C	pH	Al	Ca	K	Mg	S	CTC
	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	cmol _c dm ⁻³ de solo						
	Após pastagem								
IP-10	26,10	5,13	4,87	0,10	1,76	0,91	0,11	2,79	6,39
IP-20	23,47	6,35	4,63	0,19	1,58	0,71	0,14	2,43	6,20
IP-30	36,77	6,22	4,87	0,10	1,76	0,79	0,19	2,73	6,16
IP-40	24,20	5,56	4,67	0,21	1,46	0,82	0,08	2,35	6,37
SP	30,73	6,41	5,00	0,10	2,06	0,97	0,10	3,13	6,32

Onde, P (Mehlich), C (Walkley-Black), pH (CaCl₂), Ca (KCl), Mg (KCl), K (Mehlich). Ca (cálcio); Mg (magnésio), K (potássio); S (soma de bases); CTC (Capacidade de Troca Catiônica); Al (saturação por alumínio); Médias de 3 repetições. *- determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a IP-10, 20, 30 e 40 cm e SP sem pastejo.

Atributos físicos do solo

A umidade do solo foi determinada pelo método gravimétrico, secando-se as amostras em estufa a 100 °C por 24 h. As propriedades físicas Ds e Pt foram determinadas pelo método do anel volumétrico e a Ma e Mi foram obtidas pelo método da mesa de tensão a 60 cm de coluna de água (EMBRAPA, 1997).

Composição da comunidade bacteriana

A técnica de sequenciamento do gene 16S rDNA foi aplicada com o objetivo de caracterizar a estrutura das comunidades, assim como, para identificar os grupos bacterianos presentes nas amostras de solo. Para a extração do DNA total do solo foi utilizado o kit *MOBIO Powersoil DNA Isolation* (MOBIO Laboratories INC., Carlsbad, CA, EUA), conforme instruções do fabricante. A qualidade do DNA extraído foi analisada por eletroforese com gel de agarose e brometo de etídeo. Após a extração foi realizada a amplificação da região V4 do gene 16S rDNA (300-350 pb) utilizando o conjunto de *primers* 515f (GTG CCAGCM GCC GTAA GCG) e 806r (GGA CTA CHV GGGTWT CTA AT), conforme o protocolo descrito por Caporaso et al. (2011). Ao iniciador *forwad* foi adicionado a extremidade 3' um adaptador PMG *sequencing* e uma *tag* de identificação (*barcode*)

composta por cinco pares de bases o que possibilita a identificação das amostras pós-sequenciamento. A determinação do tamanho e qualidade dos fragmentos resultantes foi verificada em eletroforese com gel de agarose e brometo de etídeo.

Os produtos da amplificação foram purificados com o *kit* de purificação *ChargeSwitch® PCR Clean-Up Kit* (Invitrogen, Life Technologies) e quantificados usando o *Qubit ds DNA BR Assay Kit* (Invitrogen, Life Technologies) e então submetidos à reação de em-PCR (reação em cadeia da polimerase em emulsão), na qual os produtos amplificados foram ligados a esferas (*Ion Sphere*), seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante (*Ion PGM™ 200 Xpress™ Template Kit*). A qualidade da amplificação de emulsão foi confirmada em gel de agarose 2,0%, e novamente purificadas com o *kit Agencourt® AMPure® XP Reagent* e estante magnética. Posteriormente, as amostras foram sequenciadas no *Ion Torrent PGM* seguindo as recomendações da *Life Technologies* e utilizando o *kit Ion Sequencing Kit User Guide v 2.0*.

O processamento, filtragem e análise das sequências foram realizados usando o programa QIIME (*Quantitative Insights Into Microbial Ecology*) versão 1.8.0 (CAPORASO et al., 2010b). Primeiramente, as sequências foram filtradas por tamanho (excluídas as menores que 200 pb e maiores que 400 pb) e qualidade (foram removidas aquelas com escore de qualidade menor que 25 e com homopolímeros maiores que 6 nt). Os dados foram então agrupados por amostra e, posteriormente, removidas as sequências dos iniciadores. As sequências filtradas foram então checadas quanto à ocorrência de quimeras e estas foram removidas utilizando-se o programa *ChimeraSlayer* (HASS et al., 2011). As sequências foram agrupadas em Unidades Taxonômicas Operacionais (UTOs) a um nível de identidade de 97% usando UCLUST, e a sequência mais abundante foi escolhida como representativa de cada UTO. E, por fim as sequências representativas de cada UTO foram alinhadas usando *PyNAST* (CAPORASO et al., 2010a) e classificadas pelo *RDP Classifier* utilizando-se o *Ribosomal Database Project* (RDP) e a árvore filogenética foi construída pela ferramenta *FastTree* (PRICE et al., 2009) e o índice de riqueza de ChaoI foi avaliado.

Análises estatísticas

As propriedades físicas Ds, Pt, Mi e Ma foram submetidas à análise de variância e o teste Tukey a 5% de significância foi utilizado para a comparação das médias dos diferentes tratamentos utilizando o programa SASM-Agri versão 8.2 (CANTERI et al., 2001).

Para determinar as diferenças na composição da comunidade bacteriana, os dados resultantes do sequenciamento do DNA foram submetidos ao programa STAMP-*Statistical Analysis of Metagenomic Profiles* (Parks e Beiko, 2010), a uma análise de variância

(ANAVA) e a um teste de comparação múltipla por Tukey-Kramer ($p < 0.05$), e construído um dendrograma de similaridade usando o algoritmo UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean*). Comparações de médias de duas amostras independentes foram realizadas pelo teste t de Welch ($p < 0.05$) para melhor visualização das distinções entre as amostras estudadas.

A significância dos efeitos das propriedades físicas sobre a estrutura da comunidade bacteriana das amostras de solos submetidas à diferentes intensidades de pastejo animal foi examinada por correlação de Pearson ($p < 0.05$ e $p < 0.10$) no R-software (versão 3.3.2).

5.4 RESULTADOS

O sistema de integração lavoura-pecuária nas intensidades de pastejo IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40, avaliados após três ciclos de pastejo, não interferiu significativamente ($p < 0.05$) na densidade do solo (Ds), umidade e microporosidade (Mi) (Tabela 2). Verificou-se diferenças na macroporosidade (Ma) e porosidade total (Pt) na alta intensidade de pastejo animal (IP-10), com valores ($p < 0,05$) maiores que os obtidos para intensidade moderada (IP-30) e sem pastejo (SP) (Tabela 5.2).

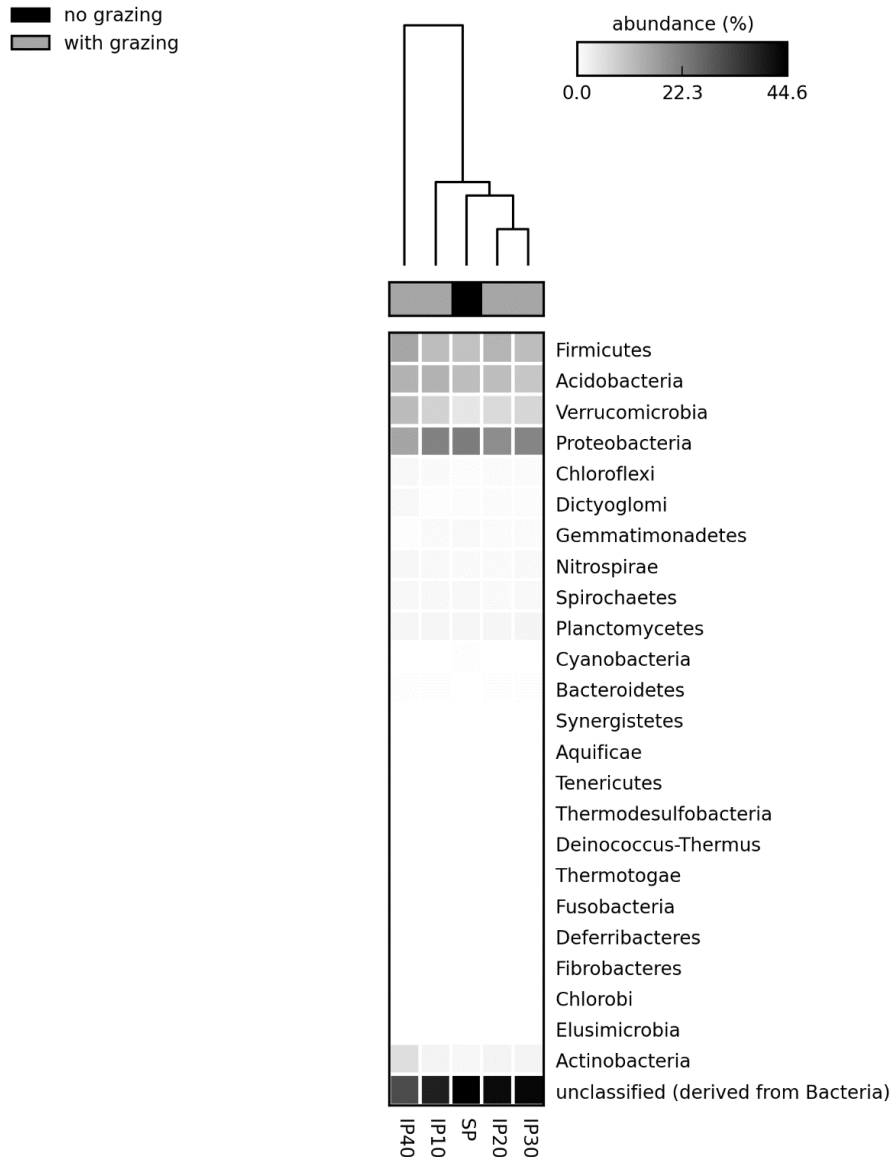
Tabela 5.2- Atributos físicos do solo em um sistema de integração Lavoura-Pecuária submetido a diferentes intensidades de pastejo animal (IP) e sem pastejo (SP), na camada de 0-10 cm de profundidade.

	Umidade %	Densidade do Solo g /cm ³	Porosidade Totalcm ³ /cm ³	Macroporosidade	Microporosidade
IP-10	10,86 a	1,57 a	0,411 a	0,228 a	0,187 ^{ns}
IP-20	9,64 a	1,60 a	0,391 ab	0,207 ab	0,184
IP-30	8,91 a	1,62 a	0,375 b	0,187 b	0,189
IP-40	10,8 a	1,58 a	0,393 ab	0,220 ab	0,184
SP	8,66 a	1,65 a	0,367 b	0,184 b	0,173

Médias seguidas da mesma letra não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40 correspondem a 10, 20, 30 e 40 cm de pastagem remanescente, respectivamente.

A avaliação do perfil taxonômico da comunidade bacteriana presente foi sensível para detectar diferenças entre as intensidades de pastejo IP-10, IP-20 IP-30 e IP-40 e na área sem pastejo (SP). Foram encontradas sequências correspondentes a 25 filós bacterianos (Figura 5.1). Em todos os tratamentos predominaram as sequências de bactérias não classificadas - cerca de 40% das sequências. Os Filós predominantes foram Proteobacteria, Acidobacteria, Firmicutes e Verrucomicrobia (Figura 5.2).

Figura 5.1. Análise de agrupamento (*heatmap*) ao nível de filo baseada no perfil das comunidades bacterianas em áreas de integração lavoura-pecuária com diferentes intensidades de pastejo (IP) e sem pastejo (SP) por comparação múltipla por Tukey-Kramer ($p < 0,05$).



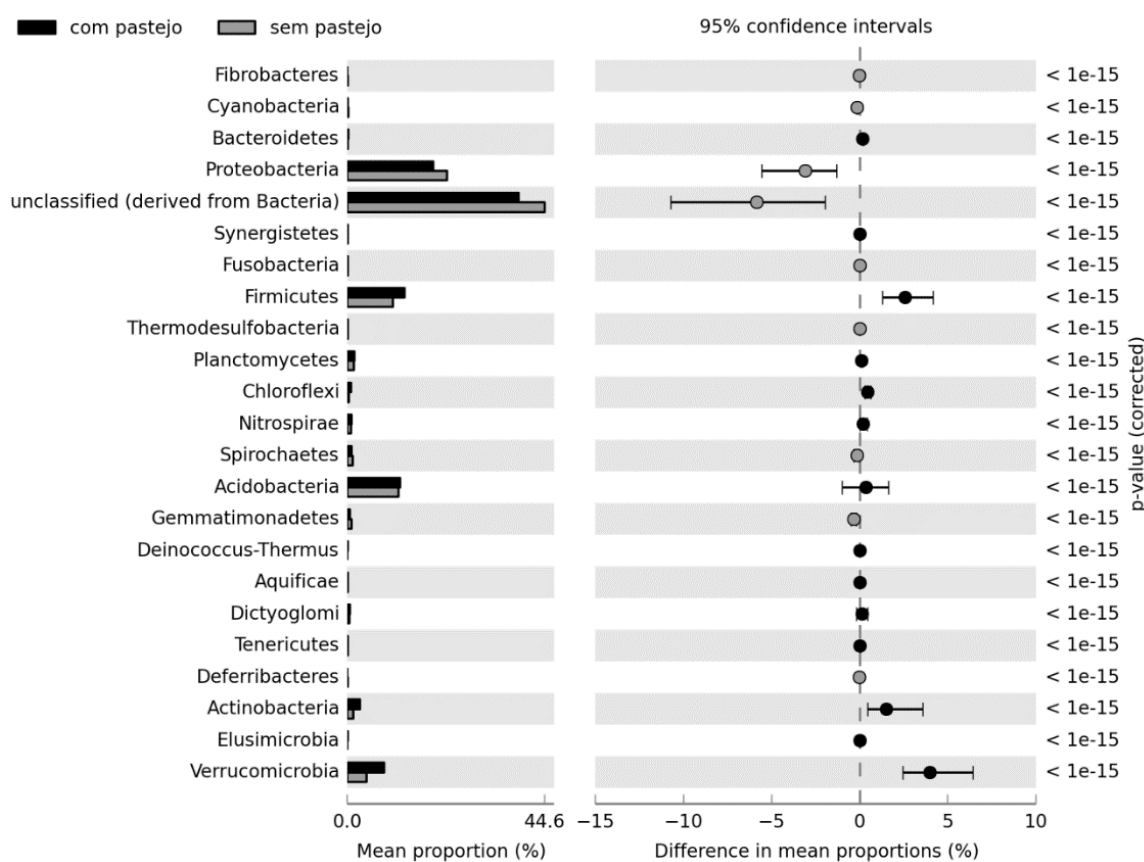
*IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40 correspondem a 10, 20, 30 e 40 cm de pastagem remanescente, respectivamente.

Apesar das áreas com intensidades de pastejo baixa (IP-40) e moderadas (IP-20 e IP-30) apresentarem atributos físicos do solo estatisticamente semelhantes à área sem pastejo (SP) (Tabela 5.2), a análise de agrupamento ao nível de filo desses tratamentos evidenciou separação entre abundância e composição dos principais filios (Figura 5.1). Com relação à estrutura da comunidade bacteriana, observa-se que, na área sem pastejo, a estrutura da comunidade bacteriana apresentou baixa similaridade com a observada na área de pastejo

baixo (IP-40), mas apresentou mais similaridade com a das áreas de intensidades de pastejo moderadas (IP-20 e IP-30) e alta (IP-10) (Figura 5.1).

As áreas sob pastejo animal proporcionaram aumento, notadamente dos filos Firmicutes, Actinobacteria e Verrucomicrobia, enquanto que na área sem pastejo predominaram o filo Proteobacteria e bactérias não classificadas (Figura 5.2).

Figura 5.2- Comparação do perfil taxonômico da comunidade bacterianas ao nível de filo entre as áreas com e sem pastejo animal em sistema de integração lavoura-pecuária. *P*-valor corrigidos foram calculados pelo teste t de Welch ($p < 0,05$).



Os grupos bacterianos predominantes nas áreas sob pastejo animal (Acidobacteria, Actinobacteria, Firmicutes e Verrucomicrobia) apresentaram correlação negativa com macroporosidade e densidade do solo e correlação positiva com porosidade total e microporosidade (Tabela 5.3). Os atributos físicos do solo não mostraram correlações com os índices de riqueza e diversidade da comunidade bacteriana. Desta forma, o pastejo animal não mudou a diversidade presente no solo mas alterou os táxons bacterianos que o compõem.

Tabela 5.3- Correlação de Pearson dos atributos físicos e biológicos do solo submetido a diferentes intensidades de pastejo animal em um sistema de integração Lavoura-Pecuária.

	Densidade do Solo		Porosidade	
	Solo	Total	Macroporosidade	Microporosidade
Acidobacteria	-0.30*	0.3*	-0.325*	0.35*
Actinobacteria	-0.22	0.14	-0.36*	0.23
Firmicutes	-0.27 ^Δ	0.22	-0.32*	0.28 ^Δ
Proteobacteria	0.56	0.05	-0.32	0.02
Verrucomicrobia	-0.3*	0.25 ^Δ	-0.31*	0.30*
Bacteria (unclassified)	0.73	-0.06	0.14	-0.10
Diversidade (Shannon)	0.004	0.13	0.24	0.02
(Chao1)	-0.07	0.204	0.24	0.07

**p-value*<0.05, ^Δ*p-value*<0.10

5.5 DISCUSSÃO

Em áreas de ILP, são poucos os relatos na literatura de reflexos negativos do pastejo sobre os atributos físicos do solo (SPERA et al., 2009; CONTE et al., 2011), o que indica o potencial do uso desses sistemas mistos de produção. Nesse estudo não foram observados efeitos nas diferentes intensidades de pastejo animal sobre a densidade do solo, umidade e microporosidade. Estes resultados corroboram os obtidos por Linnartz et al., (1996), que observaram que mesmo após dez anos de pastejo animal em uma floresta de pinheiros, não houve alterações perceptíveis na microporosidade do solo, quando comparado com uma área sem pastejo. No entanto, as alterações nos atributos macroporosidade e porosidade total do solo provocadas por pastejo animal corroboram outras pesquisas realizadas (SHARROW, 2007; SHARROW; ISMAIL, 2004, MARTINS et al., 2015), em que essas variáveis físicas também foram as mais afetadas.

O aumento da macroporosidade e porosidade total com maior intensidade de pastejo animal (IP-10) encontrado neste estudo diverge do encontrado na literatura que demonstram que há uma redução da porosidade após o pastejo (HAMZA e ANDERSON, 2005). Iglesias et al., (2014) observaram que o pisoteio animal reduziu a porosidade total do solo e esse efeito é ressaltado em solos submetidos ao preparo convencional quando comparados com um sistema plantio direto. Pietola (2005) observou alterações severas na porosidade total de um solo arenoso após o pastejo e Linnartz et al., (1996) observaram redução de 5 e 18% da macroporosidade, respectivamente, pela baixa e alta intensidade de pisoteio animal. A compactação do solo causada pela pressão do pisoteio animal, que normalmente acarreta redução da porosidade, é um dos fatores que degrada a qualidade física de um solo sob

pastagem (SILVA et al., 2003). Também Spera et al., (2010) observou compactação com o pisoteio animal e redução na macroporosidade em Latossolo Vermelho distroférico em sistema ILP. Contudo, o autor constata que esses níveis de alteração não foram capazes de degradar fisicamente o solo. No entanto, na mesma área experimental desse estudo, no segundo ciclo de pastagem, Ferreira (2013) já havia observado aumento da macroporosidade e porosidade total na camada 0-10 cm do solo com altas intensidades de pisoteio animal (10 cm de pastagem remanescente).

O aumento da porosidade total e macroporosidade na área submetida à alta intensidade de pisoteio animal (IP-10) pode estar relacionado à utilização da espécie *Brachiaria ruziziensis*, que difere das espécies forrageiras utilizadas nos trabalhos confrontados, aveia preta (SPERA et al., 2010) e aveia (IGLESIAS et al., 2014). O pastejo intensivo da braquiária estimula o crescimento radicular nas camadas superficiais do solo com a formação de bioporos, pois esta possui um sistema radicular denso e de constante renovação, o que reduz o efeito de compactação pelo pisoteio animal em área de alta intensidade de pastejo (IP-10) incrementando macroporosidade, e como consequência, a porosidade total. Chaieb *et al.*, (1996) simularam o aumento da intensidade de pastejo das espécies *Cenchrus ciliaris*, *Digitaria commutata* e *Stipa lagascae* e observaram uma permanência do sistema radicular nas camadas superficiais do solo (primeiros 15 cm), ao passo que com a diminuição da intensidade ou ausência de pastejo, o crescimento radicular se deu em camadas mais profundas do solo (primeiros 50 cm). As gramíneas forrageiras como a *Brachiaria ruziziensis*, quando bem manejadas, permitem aumento na porosidade do solo, pois a adição significativa de resíduos da parte aérea estimula a liberação de substâncias orgânicas como exsudatos, mucilagens, secreções, que interferem nos atributos físicos do solo (TISDALL; OADES, 1982).

No sistema de integração lavoura-pecuária estudado, constata-se que a inclusão de pastagens com sistema radicular de crescimento superficial pode restabelecer os impactos negativos da pressão causada pelo pisoteio animal intensivo nos atributos físicos do solo. Outro fator que pode estar associado a esse aumento da porosidade mesmo em alta intensidade de pastejo, é a escolha do sistema plantio direto para instalação do sistema ILP utilizado nesse estudo, que foi implantado com a palhada distribuída de forma homogênea e com boa cobertura do solo. O efeito do pastejo animal sobre os atributos físicos do solo é menor em sistemas plantio direto, pois a palhada o protege dos impactos diretos do pisoteio animal, reduzindo o efeito de compactação, como observado por Iglesias et al., (2014). Conhecer a porosidade do solo e suas variações mediante os diferentes manejos é essencial

pois, é no espaço poroso que ocorrem os processos dinâmicos de ar e água no solo (TAVARES FILHO, 2013). Os incrementos na macroporosidade do solo observados na área IP-10 podem estar atrelados à difusão de gases junto ao sistema radicular, aspecto limitante ao desenvolvimento vegetal e ao sucesso do estabelecimento de uma lavoura. Segundo Prechac (1992), as propriedades físicas do solo se degradam com o uso contínuo do solo sob lavoura e podem ser recuperadas com o plantio de pastagem de gramíneas, que, quando produtivas, influenciam positivamente a produção das culturas.

Os perfis taxonômicos das comunidades bacterianas do solo sob diferentes intensidades de pastejo mostraram a predominância de bactérias ainda não classificadas, o que caracteriza a comunidade microbiana do solo como bastante diversa e ainda pouco conhecida, indicando a necessidade de novos trabalhos para caracterizar as comunidades microbianas do solo e revelar novos grupos taxonômicos (ARAÚJO et al., 2012; MACEDO, 2012).

Considerando o solo um ambiente heterogêneo, em relação à diversidade microbiana, tem sido relatado estabilidade ao nível de filo na estrutura das comunidades bacterianas presentes em distintos solos (YOUSSEF; ELSHAHED, 2009). Os Filos Acidobacteria, Actinobacteria, Firmicutes e Verrucomicrobia, que predominam nos solos do sistema ILP neste estudo, também estão relatados entre os nove filos de bactérias de maior ocorrência nos solos nos estudos de Zhang; Xu (2008) e Yin et al., 2010, e também nos estudos relacionados à abundância de grupos microbianos em relação às condições de fertilidade do solo de Zilli *et al.*, 2003.

Os solos são ecossistemas complexos e sua estruturação física, em particular a porosidade, regula processos-chave como a proporção apropriada de ar e água no solo, ciclagem de nutrientes e sequestro de carbono (STOCKMANN et al., 2013). Solos com maior volume de poros comportam diversidade microbiana maior (NAVEED et al., 2016). Todavia, este trabalho mostrou mudanças nos táxons que compõe as áreas de maior porosidade sem alterações na diversidade e na riqueza de espécies encontradas nos tratamentos. Apesar de estudos mostrarem que a maior parte das bactérias habitam os microporos do solo (TORSVIK; ØVREAS, 2002; Askin; Kizilkaya, 2006), este estudo mostra que alterações na macroporosidade afetam a estrutura taxonômica da comunidade bacteriana, e seu incremento desfavorece os grupos Acidobacteria e Verrucomicrobia, descritos como estrategistas do tipo “k” (BERGMANN et al., 2011; DA ROCHA et al., 2013), especializados em decompor lentamente material orgânico mais estável e tendem a apresentar maior eficiência metabólica do que os estrategistas tipo “r” (Andrews; Harris, 1986). A correlação positiva da microporosidade com a seleção desses competidores tipo “k”, está relacionada com o

ambiente favorável presente nos microporos do solo, que proporciona crescimento de diversos táxons, redução na competição e seleção natural desses grupos, pois são mais eficientes em utilizar os recursos ambientais disponíveis (YANG; LOU, 2011). Na área sem pastejo animal a seleção positiva de bactérias do filo *Proteobacteria* é um indicativo de seleção tipo “r”, isto é, seleção de bactérias com altas taxas de crescimento e com investimento energético principalmente na reprodução (ANDREWS; HARRIS, 1986). A abordagem da estratégia “r/k” tem sido muito utilizada para descrever a estrutura das comunidades microbianas no solo. Devido aos dois tipos serem abundantes no solo, mudanças nas taxas de crescimento de toda a comunidade microbiana após alteração nos atributos físicos do solo pela adoção de diferentes manejos podem refletir a mudança em direção a dominância dos estrategistas “r” ou “k” (BLAGODATSKAYA et al., 2007).

Alguns autores relatam que as modificações na comunidade microbiana do solo são consequência de alterações da estrutura e dos processos bioquímicos, uma vez que a perda de uma determinada espécie pode ser compensada pela presença de outra, desempenhando a mesma função no sistema (KENNEDY, 1999; SETELA; MCLEAN, 2004). As alterações causadas com a introdução de animais na área em relação a área sem pastejo, proporcionaram mudanças na porosidade do solo que conduziu a uma seleção de grupos bacterianos específicos. Assim, este estudo aponta a necessidade de mensuração de diferentes parâmetros para compreender os impactos do sistema ILP na qualidade do solo, evidenciando o exposto por Stockmann et al., (2013) que uma compreensão de como o solo muda ao longo do tempo só será alcançada através do estudo do comportamento integrado dos fatores físicos e biológicos. Em um sistema de integração lavoura-pecuária, a utilização de pastejo animal intensivo não implica, necessariamente, em degradação física do solo, pois uma pastagem de crescimento radicular superficial pode estar associada ao incremento de porosidade e a modificações da comunidade bacteriana do solo.

6 ARTIGO D: INFLUENCIA DE DIFERENTES INTENSIDADES DE PASTEJO EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUARIA SOBRE OS ATRIBUTOS FISICOS E MICROBIOLÓGICOS DO SOLO

6.1 RESUMO

O sistema de Integração lavoura-pecuária (ILP) é uma alternativa para diversificação dos cultivos e redução do impacto ambiental do sistema produtivo, com potencial de promover a recuperação e conservação da qualidade do solo. No sistema ILP, a intensidade de pastejo pode interferir na qualidade do solo, em função da quantidade de resíduos vegetais deixados no sistema e do manejo dos animais. Com o objetivo de verificar a influência do sistema ILP sob os atributos microbiológicos e físicos do solo, foram coletadas amostras em três profundidades, 0-10 cm, 10-20 cm e 20-30 cm, nos tratamentos com diferentes alturas de pasto e intensidades de pastejo: 10; 20; 30; 40 cm (IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40, respectivamente), e uma área sem pastejo (SP). Os atributos microbiológicos analisados foram carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (CBM) e (NBM), respiração microbiana (RM), quociente metabólico (qCO_2), quociente microbiano ($qMIC$), atividade das enzimas fosfatase ácida, β -glucosidase, arilsulfatase, e a hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA). Dentre os atributos físicos, foram analisados o diâmetro médio ponderado (DMP) e o índice de estabilidade de agregados (IEA). Após três anos de sistema ILP, observa-se aumento nos teores de CBM, RM e qCO_2 , e, teores decrescentes da biomassa e atividade microbiana foram observados no perfil do solo. Na camada 0-10 cm IP-20 apresentou os maiores teores de CBM e os menores de qCO_2 . Nessa camada, o DMP e o IEA foram menores em IP-10, no entanto em profundidade esses valores foram aumentados, sendo superiores a IP-40 e SP. O que se verifica é que, em situação sem estresse, indiferente da intensidade pastejo ou sem pastejo, o sistema ILP sob as condições estudadas consegue manter elevados teores de nutrientes que favorecem a qualidade física e microbiológica do solo.

Palavras-chave: qualidade do solo, atividade enzimática, biomassa microbiana, IEA.

6.2 INTRODUÇÃO

A integração lavoura-pecuária (ILP) refere-se à associação entre pastagens com produção animal e cultivos agrícolas que se faz em diferentes partes do mundo, sendo uma opção singular para intensificação da produção com sustentabilidade (CARVALHO et al., 2011). O pilar conservacionista da ILP é o sistema plantio direto e as boas práticas de manejo. Assim, a utilização da pastagem em intensidade adequada é essencial para se atingir os objetivos do sistema ILP, que é conciliar a produção animal e de forragens com a de lavoura em sucessão e contribuir para manter e/ou proporcionar a qualidade do solo (MARTINS et al., 2015).

O solo é um habitat, altamente dinâmico e complexo, fundamental dos ecossistemas terrestres que representa o balanço entre seus componentes químicos, físicos e biológicos promovendo a sustentabilidade dos seres vivos que fazem parte dele. (WELC et al., 2012). Investigar qual a melhor altura do pasto é essencial para o bom desenvolvimento do sistema ILP. A altura da pastagem além de ser característica essencial para boa produção, tanto de plantas como dos animais, resulta também em entrada e fluxos diferenciados de nutrientes promovendo melhorias na qualidade do solo (CONTE et al., 2012). Assim, o solo reflete os efeitos das fases lavoura e pecuária, ou seja, atua como “componente indicador” (CARVALHO, et al., 2009).

Na região noroeste do Paraná, uma das classes de solo de maior representatividade é o Latossolo Vermelho (BHERING & SANTOS, 2008). Esses solos são derivados do Arenito Caiuá, apresentam textura média a arenosa, são distróficos, com baixos teores de matéria orgânica e muito suscetíveis à erosão (OLIVEIRA et al., 2000). O maior desafio para essa região é estabelecer um sistema de produção visando reformar as pastagens degradadas, devido ao esgotamento da fertilidade do solo e o manejo inadequado das plantas, e, garantir maior rentabilidade e sustentabilidade aos sistemas produtivos (ALVES, 2011).

Com o pisoteio animal em sistemas de ILP, os indicadores de atributos físicos são particularmente importantes. Os indicadores de agregação do solo têm refletido o incremento da qualidade do solo quando da fase pastagem sob pastejo em sistemas integrados (CARVALHO et al., 2009), já que, as propriedades físicas e os processos do solo estão envolvidos no suporte ao crescimento radicular; armazenagem e suprimento de água e nutrientes, trocas gasosas e atividade biológica (ASHAD et al., 1996).

Os indicadores biológicos do solo podem ser considerados indicadores de alguns processos que ocorrem no solo em resposta às perturbações antropogênicas, podendo constituir-se em importantes variáveis para prever a qualidade dos ecossistemas agrícolas (PÔRTO et al., 2009). Os indicadores biológicos possuem a capacidade de dar respostas muito rápidas a mudanças no solo, e em muitos casos, alterações na população microbiana podem preceder mudanças nas propriedades químicas e físicas, refletindo um claro sinal na melhoria ou na degradação do solo como um todo (ARAÚJO et al., 2007).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os atributos físicos e microbiológicos, em um sistema ILP, com diferentes intensidades de pastejo animal, comparando-as com a condição sem pastejo.

6.3 MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo faz parte do sistema de integração lavoura-pecuária (ILP) implantado na safra agrícola de 2009/2010, sobre um LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico (EMBRAPA, 2013), localizado na estação experimental do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), no município de Xambrê, PR, entre as coordenadas geográficas 23° 44' 10" S e 3° 29' 24" W e a 418 m de altitude, com clima Cfa, subtropical, classificado segundo Köppen. Os dados de temperatura e precipitação observados na região, segundo a estação meteorológica do IAPAR, durante o período de estudo são apresentados na Figura 6.1.

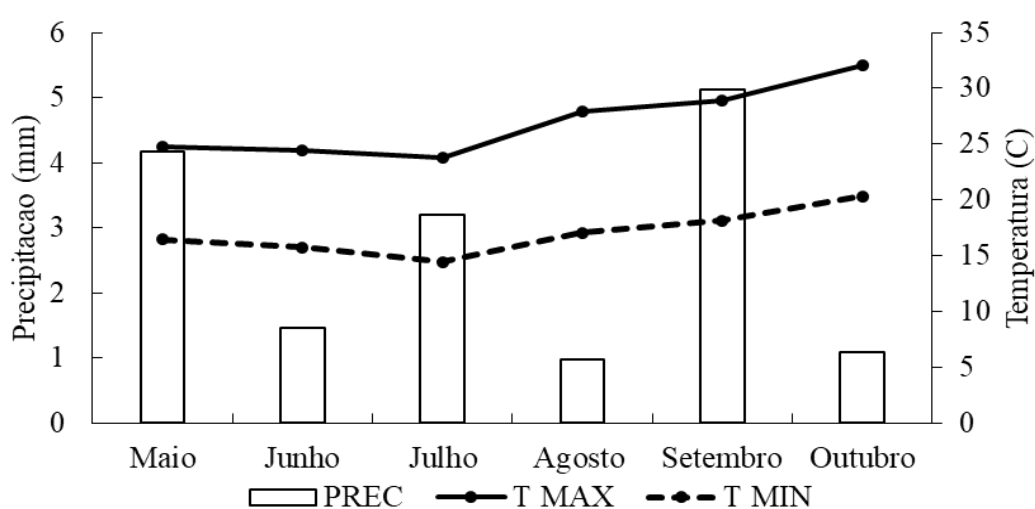


Figura 6.1 - Precipitação e temperaturas máxima e mínima durante o período de maio a outubro de 2013 na região de Xambrê, PR. Fonte: IAPAR.

Em maio de 2010, após duas safras agrícolas (2006/2007 e 2008/2009) com soja (*Glycine max*) no verão e aveia (*Avena sativa*) no inverno, sem pastejo animal, a área foi iniciada no sistema ILP, sendo dividida em 15 parcelas experimentais de 1,0 ha, com a implantação de pastagem de *Braquiária ruziziensis*, que recebeu em superfície 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples, aos 25 e 50 dias após o plantio, e 50 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia. A entrada dos animais para pastejo ocorreu em maio de 2010 quando a forrageira atingiu em média 30 cm de altura. Após a retirada dos animais, em setembro de 2010, a pastagem foi dessecada e a semeadura da soja realizada em sistema plantio direto, em outubro de 2010, com a aplicação superficial de 60 kg ha⁻¹ de K₂O e de 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅, como superfosfato simples, no plantio. Procedeu-se às mesmas adubações, tanto para a pastagem como para a soja, nos anos de 2011, 2012 e 2013.

Os tratamentos constaram de quatro alturas de pastejo de *B. ruziziensis* (10; 20; 30; e 40 cm) denominados IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40 e um tratamento sem pastejo (SP), distribuídos em delineamento experimental em blocos ao acaso, com três repetições, sendo a altura das pastagens controlada com ajuste da carga animal, verificado semanalmente com a entrada ou retirada de animais reguladores para manter a altura da pastagem o mais próximo da pretendida (AGUINAGA et al., 2006). O método de pastejo adotado foi o pastejo contínuo, com carga animal variável, por meio da utilização da técnica *put and take*, descrita por Mott & Lucas (1952), sendo fixa a quantidade de dois animais experimentais por parcela e o número de animais reguladores variáveis. A lotação animal por parcela e suas características nos diferentes tratamentos durante o pastejo estão descritas em Silva et al., (2015).

As amostragens de solo para as análises químicas, físicas e microbiológicas foram realizadas em outubro de 2013, após o terceiro ano no sistema ILP, após pastagem, nas camadas 0-10, 10-20 e 20-30 cm de profundidade. Para as análises químicas e microbiológicas, as amostras foram coletadas em 10 pontos por parcela, formando uma amostra composta e representativa por tratamento. As amostras foram homogeneizadas, passadas por peneira de malha 4 mm e armazenadas a temperatura de $7\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, até a avaliação. A determinação da umidade foi efetuada pelo método gravimétrico, secando-se as amostras em estufa a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h. O solo foi caracterizado quimicamente para P, C total, pH, Ca, Mg, Al e K (Pavan et al., 1992) (Tabela 6.1).

Tabela 6.1. Características químicas e físicas de LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), na profundidade 0-10 cm, conduzido na estação experimental do IAPAR no município de Xambê, PR.

IP	P mg/dm ³	C g/dm ³	pH	Al	Ca	Mg K S cmolc/dm ³ de solo	K	S	CTC	Argila	Silte %	Areia
0-10 cm												
IP-10	26,10	5,13	4,87	0,10	1,76	0,91	0,11	2,79	6,39	10,00	3,00	87,66
IP-20	23,47	6,35	4,63	0,19	1,58	0,71	0,14	2,43	6,20	8,30	3,66	88,00
IP-30	36,77	6,22	4,87	0,10	1,76	0,79	0,19	2,73	6,16	9,30	2,66	88,00
IP-40	24,20	5,56	4,67	0,21	1,46	0,82	0,08	2,35	6,37	10,33	2,30	87,33
SP	30,73	6,41	5,00	0,10	2,06	0,97	0,10	3,13	6,32	8,66	3,00	88,33
10-20 cm												
IP-10	16,67	4,70	4,57	0,20	1,21	0,54	0,09	1,85	5,27	8,33	2,66	89,00
IP-20	12,63	5,25	4,37	0,35	1,37	0,54	0,10	2,01	5,61	7,00	2,66	90,33
IP-30	12,50	5,12	4,70	0,14	1,32	0,46	0,14	1,92	5,18	7,33	2,33	90,00
IP-40	15,47	4,53	4,37	0,34	1,13	0,45	0,08	1,66	5,35	8,33	3,33	88,33
SP	15,13	5,32	4,80	0,13	1,57	0,64	0,07	2,28	5,46	6,33	2,66	91,00
20-30 cm												
IP-10	3,97	4,44	4,73	0,12	1,64	0,65	0,13	2,43	5,60	8,00	1,66	90,33
IP-20	3,67	4,79	4,37	0,30	1,25	0,52	0,10	1,87	5,55	7,60	1,33	91,00
IP-30	5,13	4,06	4,77	0,11	1,76	0,71	0,15	2,62	5,79	9,00	1,00	90,00
IP-40	3,77	4,23	4,53	0,22	1,41	0,56	0,08	1,87	5,29	8,00	1,33	90,66
SP	3,20	3,84	3,17	1,15	1,76	0,74	0,10	2,60	5,94	6,66	1,00	92,33

Onde, P (Mehlich), C (Walkley-Black), pH (CaCl₂), Ca (KCl), Mg (KCl), K (Mehlich). Ca (cálcio); Mg (magnésio), K (potássio); S (soma de bases); CTC (Capacidade de Troca Catiônica); Al (saturação por alumínio); Médias de 3 repetições.

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi determinado por fumigação-extração, segundo o método proposto por Vance et al. (1987). A partir dos valores do CBM e do conteúdo de carbono, foi determinado o quociente microbiano (q_{MIC}), que representa a percentagem do carbono orgânico do solo que é representado pelo CBM. Para o cálculo foi utilizado o coeficiente de conversão $K_c = 0,33$ (Sparling & West, 1988). O nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) foi determinado pelo método proposto por Brookes et al. (1985).

A respiração microbiana (RM) foi determinada incubando-se 50 g de solo em frascos hermeticamente fechados, contendo 10 mL de uma solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹ em béquer para capturar o CO₂ liberado (ALEF, 1995). Após 7 dias, o NaOH 0,5 mol L⁻¹ remanescente foi quantificado por titulação com HCl 0,5 mol L⁻¹, com auxílio do indicador fenolftaleína. O quociente metabólico (q_{CO_2}) foi determinado conforme Anderson & Domsch (1990), sendo esse atributo obtido a partir da relação C-CO₂/CBM.

A determinação da atividade das enzimas arilsulfatase (EC 3.1.6.1), fosfatase ácida (EC 3.1.3) e β -glucosidase (EC 3.2.1.21) foram realizadas segundo Tabatabai (1994), e expressas em $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol liberado por hora por grama de solo}$ ($\mu\text{g } p\text{-nitrofenol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ solo seco}$). A determinação da atividade microbiana se deu pelo método da hidrólise do diacetato de fluoresceína conforme descrito em Schnurer & Rossawall (1982), e expressa em $\mu\text{g de fluoresceína liberado por dia por grama de solo seco}$ ($\mu\text{g F g}^{-1} \text{ solo seco}$).

Para a avaliação dos agregados foram abertas trincheiras de 50 cm para coleta das amostras nas camadas 0-10, 10-20 e 20-30 cm de profundidade. A distribuição das classes de agregados foi determinada por meio de tamisamento a úmido pelo método descrito por Yoder (1936), com a adaptação proposta em Castro Filho et al. (1998), utilizando-se as peneiras de 8,0; 4,0; 2,0; 1,0; 0,5 e 0,25 mm de diâmetro. A partir das classes de agregados foram calculados o Diâmetro Médio Ponderado (DMP) e o Índice de Estabilidade dos Agregados (IEA) através das equações.

$$DMP = \sum_{i=1}^n (x_i \cdot w_i)$$

$$IEA = \left(\frac{\text{Peso da amostra seca} - wp_{25} - \text{areia}}{\text{Peso da amostra seca} - \text{areia}} \right) \cdot 100$$

em que w_i = proporção de cada classe de agregados em relação ao total;

w_p = peso dos agregados de cada classe (g);

x_i = diâmetro médio das classes (mm);

w_{p25} = peso dos agregados da classe <0.25 mm.

Todos os resultados foram submetidos à análise de variância, aplicando-se o teste de médias de Tukey ($p < 0, 05$) para as variáveis que apresentaram efeito de tratamento significativo. Utilizou-se o pacote estatístico SAS “Statistic Analytical System” (SAS, 1996). A análise de componentes principais (ACP) foi utilizada para relacionar os atributos físicos e microbiológicos com as áreas do sistema ILP, utilizando o programa XLSTAT system software (version 2016, Addinsoft™).

6.3 RESULTADOS

Após 3 anos de sistema ILP, foi possível verificar que o manejo da pastagem com intensidade moderada de pastejo animal (IP-20), apresentou teores de CBM superiores aos demais manejos, na camada 0 – 10 cm (Figura 6.2). Nessa camada não ocorreu diferença significativa entre alta intensidade de pastejo (IP-10), moderada (IP-30), baixa (IP-40) e área sem pastejo (SP). Em profundidade, na camada 10 - 20 cm apenas as áreas IP-10 e IP-20 apresentaram valores que diferiram significativamente, sendo que, os teores de CBM foram 1,5 vezes maiores em IP-20. Nesse mesmo tratamento, na camada 20-30 cm os teores de CBM em IP-10 foi em média 4.56 vezes menores em relação a IP-20 e SP, que foram significativamente superiores (Figura 6.2).

Os teores de nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) variaram entre 10.62 a 14,84 ($\mu\text{g N g}^{-1}$ solo) na camada 0-10 cm e não apresentaram diferenças significativas entre as áreas de ILP (Figura 6.2). Nas demais profundidades (10-20 e 20-30 cm) o NBM apresentou comportamento semelhante entre as profundidades, com os maiores

teores de NBM em IP-20, IP-30 e IP-10, variando de 4,5 a 7,09 $\mu\text{g N g}^{-1}$ solo na camada 10-20 e de 7.7 a 10.9 $\mu\text{g N g}^{-1}$ solo na camada 20-30 cm de profundidade. Na camada 10-20, o NBM no tratamento IP-20 foi significativamente superior ao obtido em IP-40 e SP. Na camada 20-30, o NBM em IP-20 foi significativamente superior ao obtido para o IP-40 (Figura 6.2).

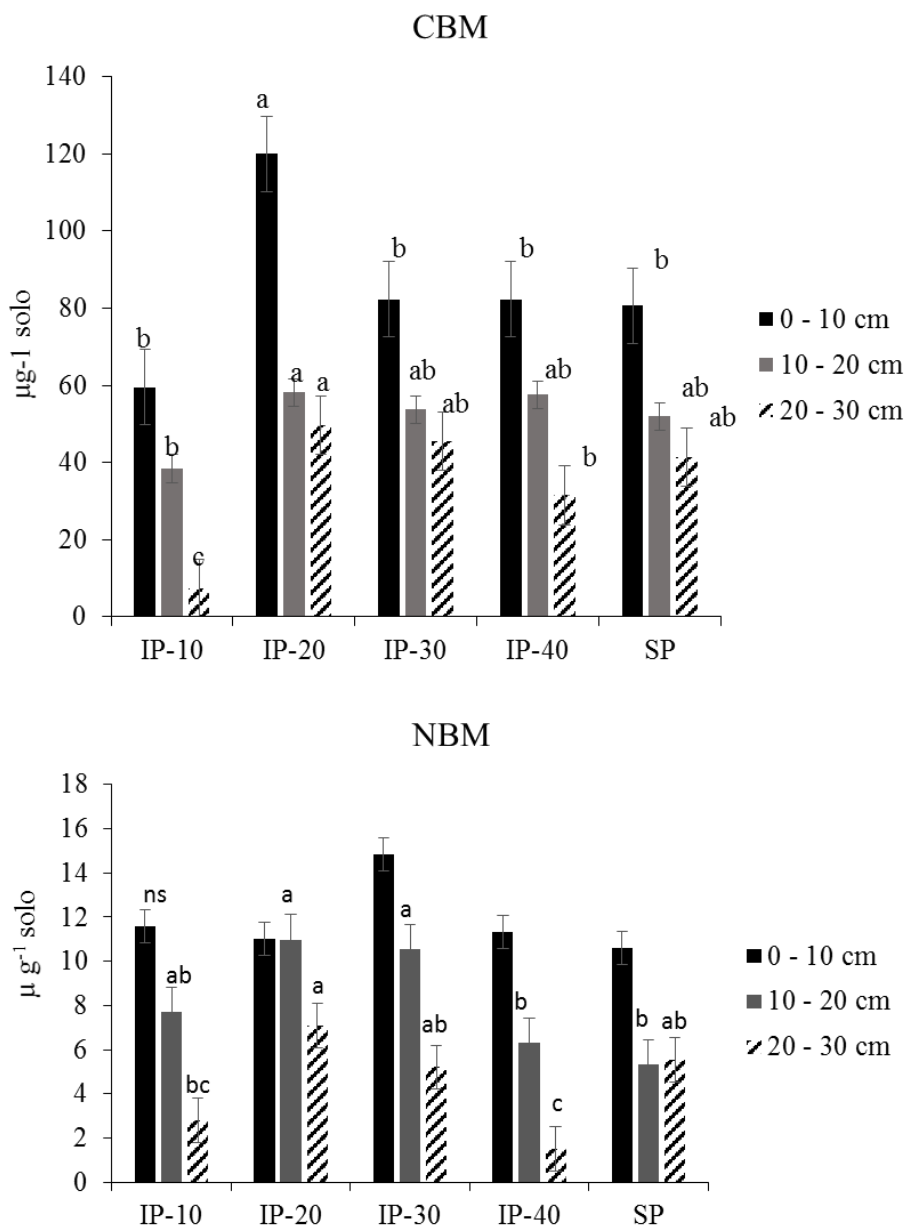


Figura 6.2- Carbono da biomassa microbiana (CBM) e Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, com diferentes intensidades de pastejo (IP), IP-10, 20, 30 e 40, correspondendo respectivamente a 10, 20, 30 e 40 cm e SP- sem pastejo nas camadas 0-10 cm, 10-20cm e 20-30 cm. Onde ns, corresponde a não significativo pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) de probabilidade.

Não foram observadas diferenças significativas nos valores da respiração microbiana (RM) para a camada 0-10 cm (Tabela 6.2). Já, na camada 10-20 cm de profundidade verificam-se perdas da ordem 8,9 vezes nos valores de RM, nesta camada, IP-20 apresentou valores significativamente maiores, em relação as áreas IP-10 e IP-30 (Tabela 6.2), e esses não apresentaram diferença significativa em relação a IP-40 e SP. Entretanto, na camada 20-30 cm houve decréscimo na atividade microbiana em relação as camadas superiores, com valores de RM superiores para SP, seguido por IP-20. A RM foi menor no IP-10 (Tabela 6.2).

Em relação aos valores de qCO_2 na camada 0-10 cm, o IP-20 foi significativamente inferior a IP-10, sendo 2.5 vezes menor, em relação aos valores na área de alta intensidade de pastejo (IP-10) e 1.91 vezes menor quando comparado as áreas IP-30, IP-40 e SP (Tabela 6.2). Na camada 10-20 cm não houve significativa entre as áreas avaliadas. Na camada 20 - 30 cm, os valores de qCO_2 foram menores, no entanto, a IP-40 apresentou valor significativamente superior, sendo 26.57 vezes maior que IP-10, que apresentou o menor valor de qCO_2 (Tabela 6.2).

Tabela 6.2- Respiração microbiana (RM), quociente metabólico (qCO_2) e $qMIC$ em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), nas camadas 0-10 cm, 10-20cm e 20-30 cm.

	Respiração microbiana	qCO_2	$qMIC$
IP*	($\mu g C-CO_2 g^{-1} dia^{-1}$)	($\mu g C-CO_2 g^{-1} C-CBM h^{-1}$)	%
0 a 10 cm			
IP-10	1,99 ^{ns}	34,01 a	1,23 ^{ns}
IP-20	1,59	13,41 b	1,89
IP-30	2,0	25,05 ab	1,31
IP-40	1,78	22,64 ab	1,44
SP	2,24	29,39 ab	1,25
CV(%)	14,15	23,29	18,03
10 a 20 cm			
IP-10	0,15 b	3,64 ^{ns}	0,89 ^{ns}
IP-20	0,38 a	6,47	1,12
IP-30	0,12 b	3,74	0,78
IP-40	0,21 ab	3,71	1,36
SP	0,22 ab	4,85	0,95
CV(%)	31,30	38,79	29,14
20 a 30 cm			
IP-10	0,004 c	0,14 d	0,75 ab
IP-20	0,04 ab	0,83 c	1,00 a
IP-30	0,02 bc	0,67 cd	1,05 a
IP-40	0,03 abc	3,72 a	0,24 b
SP	0,06 a	1,57 b	1,14 a
CV(%)	34,27	15,50	23,44

Onde ns, corresponde a não significativo pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) de probabilidade. *- determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo.

Neste estudo, os valores da relação entre o C microbiano e o C orgânico do solo ($qMIC$) não apresentaram diferença significativa nas camadas 0 – 10 e 10 – 20 cm (Tabela 6.2). Entretanto, diferença significativa foram encontradas somente entre as áreas de intensidade moderada de pastejo (IP-20 e IP-30) e SP em relação a área de baixa intensidade de pastejo (IP-40), na camada de 20 - 30 cm.

Após o ciclo da pastagem, a enzima β - Glucosidase apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as áreas (Tabela 6.3). A maior atividade ocorreu no IP-40 e SP (211 e 217 $\mu g PNH g^{-1} h^{-1}$, respectivamente), que foram significativamente ($p < 0,05$) superiores a IP-10, IP-20 e IP-30 (Tabela 6.3).

Não houve diferença ($p < 0,05$) na atividade da enzima Fosfatase ácida, Arilsulfatase e da FDA entre os tratamentos (Tabela 6.3). No entanto, na área sem pastejo animal a atividade da enzima Arilsulfatase foi 1.22 vezes maior ($9,30 \mu\text{g PNH g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) em relação as áreas pastejadas (média $7,6 \mu\text{g PNH g}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Com exceção do tratamento IP-20, a atividade da FDA apresentou comportamento inverso a da enzima Arilsulfatase, as áreas com pastejo animal IP-10, IP-30 E IP-40 apresentaram maior atividade (média $131 \mu\text{g PNH g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) em relação ao tratamento sem pastejo, que foi 1,13 vezes menor (Tabela 6.3).

Tabela 6.3- Atividade enzimática da arilsulfase, fosfatase ácida, β -glucosidase e fosfatase ácida em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária, com pastagem e soja em sucessão, com diferentes intensidades de pastejo (IP), na camada de 0 a 10 cm.

IP*	Arilsulfatase	Fosfatase ácida	β -Glucosidase	FDA
		$\mu\text{g PNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$		$\mu\text{g F g}^{-1}$
IP-10	6,65 ^{ns}	125,00 ^{ns}	184,07 b	135,61 ^{ns}
IP-20	7,24	120,20	184,73 b	118,63
IP-30	8,88	115,58	183,62 b	133,04
IP-40	7,64	95,24	211,31 a	126,19
SP	9,30	112,17	217,26 a	115,50
CV%	13,9	9,53	4,2	10,64

Onde ns, corresponde a não significativo pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) de probabilidade. *- determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo.

O diâmetro médio ponderado (DMP) e o índice de estabilidade de agregados (IEA) foram influenciados pelo sistema ILP e pela profundidade de amostragem (Tabela 6.4). Na camada 0-10 cm, os valores de DMP e IEA foram superiores em IP-30, IP-20, IP-40 e SP, com valores mais baixos no IP-10 (Tabela 6.4).

Na camada 10 – 20 cm de profundidade, em relação à camada 0 – 10 cm, as áreas IP-10, IP-20, IP-30 e SP apresentaram acréscimo nos valores de DMP de 91%, enquanto no IP-40 o valor foi 51% menor (Tabela 6.4). Junto à área sem pastejo animal, o IP-40 apresentou o menor valor do DMP. Os valores do IEA foram maiores nos IP-10, IP-20 e IP-30 e menores em IP-40 e SP (Tabela 6.4), e, assim como ocorreu para o DMP, também apresentaram aumento nos seus valores em relação à camada superior. Para o IEA, esse aumento foi de 54% em média para IP-10 e IP-20.

Os valores do DMP não apresentaram diferença significativa na camada 20-30 cm (Tabela 6.4). Nesta camada, o DMP no IP-10, assim como os demais tratamentos, diminuíram em relação à camada 10 – 20 cm, no entanto, apresentou um aumento de 81% em relação à camada 0 - 10 cm. Os valores de IEA foram maiores no IP-10 e menores em IP-30 (Tabela 6.4).

Tabela 6.4- Diâmetro médio ponderado (DMP) e Índice de estabilidade de agregados (IEA) em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, em sistema de integração lavoura-pecuária com pastagem e soja em sucessão, em diferentes intensidades de pastejo (IP), nas camadas 0-10cm, 10-20cm e 20-30cm.

Camadas	Intensidades de pastejo					C.V.(%)
	IP-10	IP-20	IP-30	IP-40	SP	
	DMP (mm)					
0 - 10 cm	0,72 b	2,07 a	2,83 a	2,18 a	2,41 a	16,9
10 - 20 cm	4,05 a	4,19 a	4,49 a	1,44 b	2,64 b	14,81
20 - 30 cm	1,32 ^{ns}	1,55	0,89	1,13	1,18	31,38
	IEA (%)					
0 - 10 cm	24,25 b	41,44 a	49,4 a	39,87 a	43,36 a	12,05
10 - 20 cm	48,58 a	52,75 a	48,58 a	32,43 b	36,17 b	9,13
20 - 30 cm	54,44 a	44,63 ab	34,02 b	34,64 ab	40,85 ab	16,14

Onde ns corresponde a não significativo pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) de probabilidade. *- determinado pela altura da pastagem remanescente após o pastejo, correspondendo a 10, 20, 30 e 40 cm para os tratamentos IP-10, 20, 30 e 40, respectivamente, SP- sem pastejo.

De acordo com a Análise de Componentes Principais (PCA) na camada 0-10 cm, as diferenças entre as áreas explicam 73,71 % da variabilidade encontrada. Desse percentual, 49,51 % são explicados pelos componentes principais F1 e 24,20 % por F2 (Figura 6.3). As áreas de intensidade moderada de pastejo animal, IP-20 e IP-30, e a área de baixa intensidade de pastejo (IP-40), apresentaram espacialmente maior proximidade, com correlação positiva aos atributos BMC, BMN, qmic, DMP, e IEA e carbono. O tratamento IP-10, entre os tratamentos com presença de animais foi o que mais se distanciou dos demais, sendo relacionado positivamente com a atividade de FDA. A área sem pastagem (SP) foi a que apresentou maior distância espacial entre os tratamentos, sendo relacionada positivamente com RM, atividade da Arilsulfatase e β -glucosidase, e também ao teor de argila e pH (Figura 6.3).

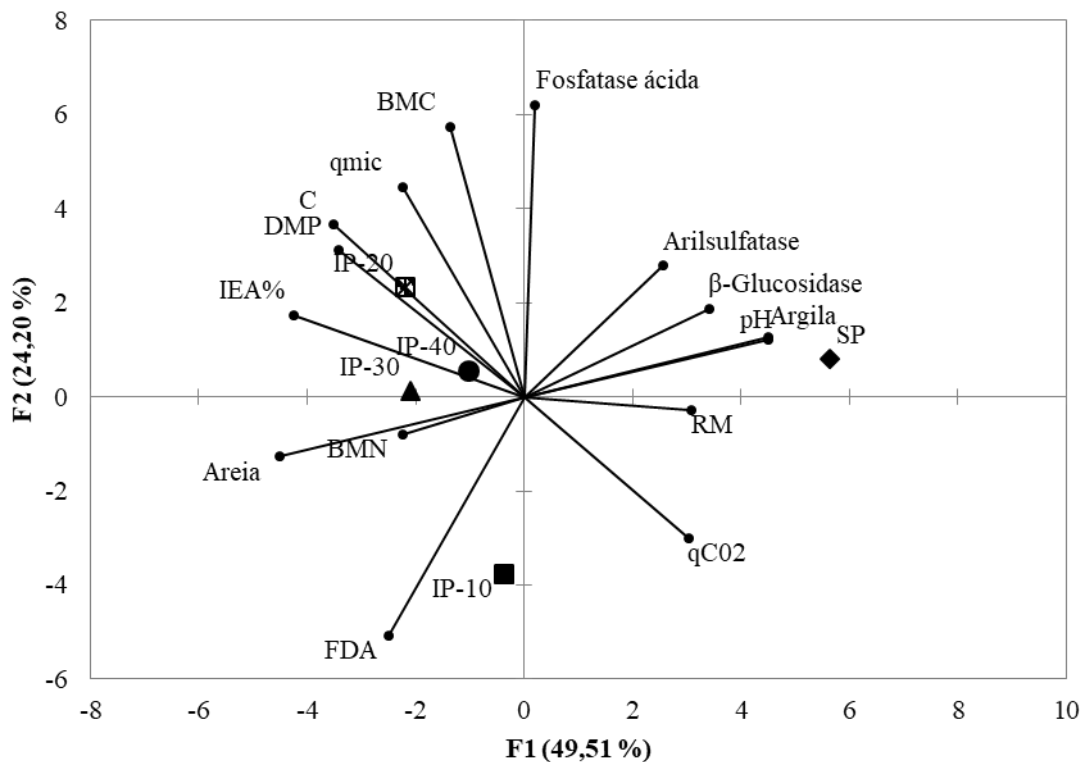


Figura 6.3 -Análise de componentes principais (ACP) baseada em variáveis microbiológicas, físicas e químicas, em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico em sistema de integração lavoura-pecuária, com pastagem e soja em sucessão, com diferentes intensidades de pastejo (IP), IP-10, 20, 30 e 40, correspondendo respectivamente a 10, 20, 30 e 40 cm e SP- sem pastejo na profundidade de 0 a 10 cm.

6. 4 DISCUSSÃO

Estudos demonstram, que, quando bem manejadas, as pastagens e os animais agregam ao sistema ILP quantidades de nutrientes essenciais para as plantas, e que promovem aumento significativo da biomassa de micro-organismos (GHANI et al., 2003; GARCIA; NAHAS 2007; Souza et al., 2010; Silva et al., 2015). Além disso, a adição de resíduos vegetais nas áreas varia em função da intensidade de pastejo, sendo maior via sistema radicular no IP-10, da parte aérea no SP e intermediário de IP-20 a IP-40 (MARTINS et al., 2015). Garcia; Nahas (2007), ao investigarem o efeito da lotação de ovinos sobre os micro-organismos do solo, concluem que lotações adequadas de animais favorecem o aumento da população microbiana, e associam este aumento aos dejetos animais liberados no solo.

Aumentos nos teores de teores de CBM, RM e $q\text{CO}_2$ na camada 0-10 cm foram observados, quando comparados aos valores obtidos no início do experimento (SILVA et al., 2015). O incremento dos valores de CBM e da atividade microbiana no decorrer do tempo estão diretamente relacionados a imobilização temporária de nutrientes e, conseqüentemente, menor propensão a perdas (MERCANTE et al., 2008), conforme hipótese de Silva et al., (2015). Ressalta-se que o sistema radicular das gramíneas apresenta rápido desenvolvimento vegetativo, aumentando a liberação de exsudatos no solo, o que favorece o desenvolvimento e crescimento da população microbiana na rizosfera (SOUZA et al., 2010, CHAVEZ et al., 2011). A maior imobilização de carbono pela microbiota em áreas com plantas de cobertura deve-se ao maior teor de C orgânico incorporado ao solo via resíduos destas plantas (CARNEIRO et al., 2008). A maior quantidade de resíduos na superfície do solo, além de aumentar a disponibilidade de substrato, determina condições de menor variação térmica e maior disponibilidade de água, (VARGAS; SCHOLLES, 2000), o que favorece o incremento da biomassa microbiana do solo. Outro fator que favorece o incremento da biomassa é a presença de leguminosas nos sistemas de rotação de culturas, associada à redução de revolvimento do solo, (BALOTA et al., 1998, PEREIRA et al., 2007).

Neste trabalho, nas áreas de intensidade de pastejo animal classificadas como moderadas (IP-20, IP30), ocorreu uma remoção moderada de perfilhos da pastagem, resultando em boa cobertura vegetal, maior renovação da pastagem, que estimula a biomassa microbiana em decorrência da liberação de substâncias orgânicas (Carvalho et al., 2011). Conforme relatado por Carvalho et al., (2011), em alturas moderadas a leves (20 - 40 cm) de pastejo, existe maior área foliar para interceptar a radiação solar e assim, transformar radiação em crescimento da parte aérea e diretamente crescimento de raízes. No entanto, mesmo com sistema radicular abundante, a pastagem de *Brachiaria ruziziensis* teve os valores de CBM diminuídos em profundidade na área de baixa intensidade de pastejo (IP-40) (Figura 2). Este fato, está ligado ao aporte diferenciado de resíduos liberados, uma vez que em alturas mais elevadas (IP-40), tendo maior oferta de pastagem, o animal permanece mais tempo em um mesmo local e acarreta baixa produção de novos perfilhos, diferente do que ocorre em áreas de pastejo intensivo onde há constante renovação da pastagem. Não ocorrendo renovação da parte aérea, o sistema radicular para de se desenvolver, uma vez que não há necessidade de crescimento da raiz para dar suporte à novos perfilhos (REID; GOSS, 1980). Nesse ponto, ocorre

menor disponibilidade de nutrientes em profundidades para a comunidade microbiana, que se reflete em baixos teores de CBM e NBM, como verificado neste trabalho.

Os resultados de nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) não apresentaram diferenças entre os tratamentos avaliados, e foram semelhantes aos verificados por Souza et al. (2010), após sete anos de rotação soja/pastagem em Latossolo Vermelho distroférico, no sul do Brasil. Devido à constante absorção de nutrientes pela planta, os teores de N no solo tendem a diminuir. Com isso, o NBM também segue diminuindo com o tempo, fazendo com que desapareçam as diferenças entre as intensidades de pastejo. Hatch et al. (2000) e Vargas et al. (2005) observaram, em solo sob pastagem e sistema plantio direto, respectivamente, aumentos no NBM apenas em longo prazo. Esses autores argumentam que isso se deve ao efeito acumulativo de resíduo vegetal e consequente aumento de C orgânico no solo. Nesse trabalho, a recente instalação do sistema ILP (três anos) também pode justificar a ausência de diferença entre os tratamentos. Verifica-se que, mesmo na maior intensidade de pastejo, o sistema de integração lavoura-pecuária consegue manter os teores de NBM próximos aos das menores intensidades de pastejo.

A respiração microbiana está relacionada a atividade biológica e também à atividade de decomposição dos resíduos orgânicos do solo (LOPES et al., 2010). Neste trabalho, a ausência de diferenças significativas entre as diferentes intensidades de pastejo e área sem pastejo, na camada 0 -10 cm, não evidenciam que a atividade biológica do solo não foi influenciada pela distribuição diferenciada de nutrientes. A maior cobertura do solo, resultante da quantidade de resíduos vegetais na superfície da área IP-20, IP-30, IP-40 e SP, favorece a manutenção de maior conteúdo de água no solo e maior estoque de C e N, que estimulam a atividade da microbiota (Carvalho et al., 2010). Já em situações de baixa oferta de forragem, como no tratamento IP-10, o animal caminha mais para adquirir o alimento que necessita (Baggio, 2007), distribuindo os dejetos em vários pontos da área, isso irá alterar a distribuição de material orgânico lábil nos tratamentos, e pode afetar a atividade microbiana da parcela. Esse fato é comprovado pelas diferenças observadas com as profundidades, nas camadas 10 – 20 e 20 – 30 cm, onde áreas com características semelhantes IP-20 e IP-30, apresentaram comportamento diferentes.

Mercante et al. (2008) e Carneiro et al. (2009), relataram que quanto menor o $q\text{CO}_2$, menos C é perdido com CO_2 pela respiração, mais eficiente é a biomassa microbiana na utilização de compostos orgânicos, incorporando mais carbono aos

tecidos microbianos. Dessa forma, solos com baixos valores de qCO_2 estão próximos ao equilíbrio, sendo que maiores valores são encontrados em ambientes estressantes, onde ocorre maior consumo de carbono para a manutenção da biomassa microbiana. Segundo essa concepção, os valores de qCO_2 verificados nos tratamentos de baixa intensidade de pastejo e SP deveriam estar próximos aos observado das áreas, de intensidade moderada de pastejo (IP-20 E IP-30). Uma vez que, a incidência de raios solares é menor e a manutenção da umidade é maior quando comparada a altas intensidades. Contudo, esse comportamento não foi o observado (Tabela 6.2), o que possivelmente está relacionado a um estresse nutricional imposto por baixa disponibilidade de nutrientes, ou pela elevada acidez nos solos estudados (Tabela 6.1), que tendem a reduzir a populações microbianas e sua eficiência catabólica (BÖHME et al., 2005).

A ausência de diferença significativa entre os tratamentos em relação a $qMIC$, indica que a biomassa microbiana aumentou mesmo em níveis inalterados de carbono (Tabela 6.1), demonstrando que indiferente do tratamento o sistema ILP sob as condições estudadas, foi capaz de eliminar fatores limitantes e/ou aumentar matéria orgânica de boa qualidade. Segundo Wardle (1995), em circunstâncias em que a biomassa se encontra sob algum fator de estresse (deficiência de nutrientes, acidez, entre outros), a capacidade de utilização do carbono é reduzida. Nesse caso, a relação C microbiano: C orgânico diminui o $qmic$. Ao contrário, maiores valores de $qMIC$ indicam condições mais apropriadas para o desenvolvimento microbiano.

Teores decrescentes tanto para BMS (C e N), como para RM, qCO_2 e $qMIC$ em relação a profundidade do solo foram observados neste trabalho. De acordo com Silva e Mendonça (2007), a biomassa e atividade microbiana são maiores nas camadas mais superficiais, pela maior disponibilidade de matéria orgânica, água e nutrientes. No entanto, conforme mencionado, o sistema radicular abundante da pastagem favorece a biomassa e atividade microbiana devido os compostos organismos liberados em profundidade, uma explicação para a ausência de efeito de uso ou manejo dos solos estudados sobre a eficiência metabólica dos microrganismos, nestas camadas é uma mudança das populações microbianas ao longo do perfil do solo, passando de uma predominância de estrategistas 'r' na camada mais superficial (favorecidos pela abundância de material facilmente decomponível) para de estrategistas 'K', na camada de 10-20 e 20-30 cm. Os estrategistas 'K' são especialistas em decompor lentamente material orgânico mais estável e tendem a apresentar maior eficiência metabólica do que os estrategistas 'r' (INSAM & HASSELWANDTER, 1989). Souza et al., (2010),

verificaram aumento de COT em profundidade após sete anos de rotação soja/pastagem em Latossolo Vermelho distroférico, no sul do Brasil, Rethemeyer et al. (2005), estudando a concentração de radiocarbono ao longo do perfil de solos na Alemanha, concluíram pelo enriquecimento progressivo de compostos orgânicos estáveis com o aumento da profundidade do solo, corroborando assim a sugestão de que, no presente estudo, uma mudança de estrategistas 'r' para estrategistas 'K' tenha ocorrido entre as camadas de solo estudadas.

As enzimas que ocorrem no solo desempenham papel fundamental atuando como catalisadoras de várias reações que resultam na decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, formação da matéria orgânica e da estrutura do solo e permitem avaliar diferentes aspectos dos componentes microbiológicos dos solos auxiliando nos estudos sobre o efeito de diferentes manejos de solo (BALOTA et al., 2014).

A maior cobertura do solo, resultante da quantidade de resíduos vegetais na superfície da área SP e com a diminuição da intensidade de pastejo, aumenta a quantidade de resíduos vegetais presentes sobre o solo, pois menor quantidade da biomassa de forragem é consumida (MARTINS et al., 2015). Baixa atividade da β -glucosidase na área IP-10 e IP-20, em comparação às áreas de pastejo baixo e sem pastejo, no sistema de integração lavoura-pecuária, podem ocorrer em razão da redução na biomassa vegetal e, conseqüentemente, da redução dos nutrientes e da umidade do solo, com efeitos nocivos para as comunidades microbianas (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2010). Analisando a influência do pastejo na atividade biológica do solo, Prieto et al. (2011) registraram declínio na atividade da β -glicosidase em reposta à redução da cobertura vegetal das gramíneas perenes estudadas, em razão do pastejo. Nesse estudo, é possível que o pastejo tenha ocasionado a redução da cobertura vegetal em nível capaz de influenciar a atividade da β -glicosidase, que foi menor nos tratamentos de maior intensidade de pastejo.

Ao se considerar que, dentre os principais fatores que afetam a atividade das enzimas, além da quantidade é a qualidade dos resíduos vegetais (MENDES et al., 2009), bem como o pH, temperatura e umidade do solo (EKENLER e TABATABAI, 2003), podemos inferir que estes fatores agiram de forma homogênea entre áreas do sistema ILP, não visto que não houve que não houve diferença entre os tratamentos sobre a atividade das enzimas arilsulfatase, fosfatase ácida e FDA.

A fosfatase ácida possui extrema importância na mineralização do P orgânico do solo, e isto é particularmente importante quando se trata de solos de baixa fertilidade, em que a disponibilidade deste nutriente é restrita. No entanto, vale ressaltar que na área do sistema ILP ocorre adição periódicas de fertilizantes fosfatados, que interfere na expressão de proteínas e reguladores que controlam a produção dessa enzima. Isto significa que quando a quantidade de fosfato inorgânico é elevada no solo, a tendência é que a atividade de fosfatase seja reduzida, situação que ocorre geralmente em solos que recebem adubos fosfatados (PEIXOTO, 2010).

A atividade microbiana, avaliada pela hidrólise de FDA foi uniforme nas áreas pastejadas e sem pastejo, demonstrando mais uma vez e corroborando o relatado por Silva et al., (2015) e Chavéz et al., (2011) que a hidrólise de FDA não foi sensível para avaliar diferenças entre as intensidades de pastejo em solos arenosos sob ILP.

O estado de agregação do solo é um dos mais importantes indicadores de alterações no solo promovidas pelos sistemas de produção agrícolas, pois relaciona a estrutura do solo a processos bioquímicos relacionados ao balanço de carbono no sistema (STEFANOSKI et al., 2013).

Neste trabalho, a agregação do solo, avaliada pelo DMP e IEA, foi favorecida pelo pastejo animal, especialmente quando em pastejo moderado (IP20 e IP30). Essas características também foram observadas por Martins et al., (2015) após levantamento de 15 anos de experiência com sistema ILP no sul do Brasil e por Bonetti (2013) após quatro anos de sistema ILP na região do Cerrado. Assim, os autores concluíram que, a presença de animais contribuiu de forma direta para a estabilização dos agregados pela aproximação das partículas pelo pisoteio animal. Outro fator é o efeito da parte aérea em reduzir as variações de umidade do solo e o efeito do pisoteio animal em intensidade moderada, devido a redução do seu impacto do pisoteio pela parte aérea, favorecendo maior agregação do solo nessas áreas (SOUZA et al., 2010).

No entanto, o menor valor de DMP na camada 0-10 cm verificado na alta intensidade de pastejo (IP-10), pode ser explicada por perdas de C, conforme verificado por Souza et al. (2009) após três anos de sistema ILP sob plantio direto, onde com menor teor de C ocorre menor formação de agregados maiores. Outro fator é o efeito do pisoteio animal em IP-10 que ocorre em proporção mais intensa, uma vez que o aporte de parte aérea é menor, o que aumenta o impacto do pisoteio animal no solo, reduzindo os agregados (MARTINS et al., 2015).

O efeito do sistema radicular abundante da gramínea ficou evidenciado na profundidade 10 – 20 cm. Ao se compararem as camadas de amostragem, foi observado decréscimo no DMP de agregados na camada de 10-20 e 20-30 cm em relação à camada superficial (Tabela 6.4). Na camada de 10–20 cm, o IP-10 apresentou menor DMP, tendo-se equiparado à área sem pastejo. Esse efeito demonstra as funções que as raízes exercem no solo, podendo determinar aumento de estabilidade de agregados no solo através da aproximação das partículas. Provavelmente a exsudação do sistema radicular favoreceu a agregação (SALTON et al., 2005). Contudo, o aumento do DMP de agregados em áreas sob pastejo não é um indicador de melhoria no estado de agregação do solo, pois solos compactados podem apresentar elevada estabilidade de agregados em água e, conseqüentemente, maiores valores de DMP (CARPENEDO; MIELNICZUK, 1990). É provável que, neste trabalho, os agregados em virtude do pisoteio animal, não apresentam características estruturais desejáveis de solos considerados bem estruturados, mas sejam mais estáveis em água do que os agregados encontrados na área sem pastejo.

Conforme observado por Conte et al., (2012), o aumento no DMP é comumente observado em solos utilizados em sistemas de manejo que promovem grande adição de biomassa, o que aumenta o teor de carbono do solo, com a presença de espécies que tenham sistema radicular abundante, principalmente de gramíneas, já que a formação e a estabilidade dos macroagregados estão ligadas ao crescimento das raízes e à dinâmica da matéria orgânica do solo (SILVA; MIELNICZUK, 1997; SALTON et al., 2005).

De acordo com a ACP, foi possível observar que com exceção do nitrogênio da biomassa microbiana, todos os atributos microbiológico, bioquímicos e físicos do solo foram sensíveis na avaliação para determinar os efeitos do manejo das alturas de pastagem sobre o solo. Demonstrando que a intensidade moderada de pastejo IP-20 e IP-30, na camada 0-10 cm, são os que mais favorecem a formação de DMP e o IEA, e, como consequência garantem a qualidade física da matéria orgânica, e além de agrupar a maioria dos atributos microbiológicos. Por outro, a área sem pastejo animal proporcionou acúmulos de material vegetal na superfície do solo que proporcionou a atividade enzimática, indicando que mesmo sem pastejo animal os nutrientes liberados pela gramínea são capazes de manter os teores de nutrientes para a biomassa microbiana. O que se verifica é que em situação sem estresse, indiferente da intensidade de pastejo ou sem pastejo, o sistema ILP sob as condições estudadas consegue manter elevados teores de nutrientes que favorecem a qualidade física e microbiológica

do solo. Para isto, não apenas um fator isolado pode estar contribuindo para a sua qualidade, mas sim o efeito como um todo do manejo aplicado.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O sistema integração lavoura pecuária (ILP) no noroeste do Paraná, em LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, aumenta teores de nutrientes no solo que favorecem sua qualidade física e microbiológica. Após os três primeiros anos de implantação do sistema na área observa-se aumento da biomassa microbiana e da atividade para todos os tratamentos.

A implantação de um sistema ILP, assim como qualquer prática agrícola, altera significativamente a estrutura da comunidade bacteriana do solo em relação à mata nativa. O impacto da implantação dessa atividade agrícola acarreta em aumento da riqueza taxonômica, com o aparecimento de grupos metabolicamente diversificados para manter a funcionalidade do ecossistema.

O pisoteio animal que poderia ser um processo de degradação física devido à pressão animal no solo não apresentou essa característica. As intensidades moderadas de pastejo são as que mais favorecem a formação de agregados grandes e o índice de estabilidade de agregados no perfil do solo, em nível superior ao promovido no sistema ILP sem a presença de animais até a camada de 30 cm. A utilização de pastejo animal intensivo (10 cm) não implica, necessariamente, em degradação física do solo, pois uma pastagem de crescimento radicular superficial pode estar associada ao incremento de porosidade.

A intensidade moderada de pastejo, com 20 cm de pastagem remanescente, incrementa os valores da biomassa microbiana e sua atividade no perfil do solo, e foi a que melhor se adequou à área estudada, por apresentar melhorias na qualidade do solo como um todo. Indicando ser uma alternativa de prática agrícola para minimizar os problemas dos solos cultivados da região e para recuperar pastagens degradadas.

8 REFERENCIAS

ACOSTA MARTINEZ, V., DOWD, S.E., BELL, C., LASCANO, R.J., BOOKER, J.D., ZOBECK, T.M., UPCHURCH, D.R. Microbial community composition as affected by dryland cropping systems and tillage in a semiarid sandy soil. **Diversity**, v. 2, p. 910-931, 2010.

AGUINAGA, A.A.Q.; CARVALHO, P.C.F.; ANGHINONI, I.; SANTOS, D.T.; FREITAS, F.K.; LOPES, M.T. Produção de novilhos superprecoces em pastagem de aveia e azevém submetida a diferentes alturas de manejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.35, p.1765-73, 2006.

AJWA, H. A.; DELL, C.J.; RICE, C.W.; Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, p.769 - 777. 1999

ALLISON, S. D.; MARTINY, J. B. H.: Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities, **PNAS**, v.105, p.11512–11519, 2008.

ALVES, J.S. Estudo das perspectivas de expansão da Integração Lavoura Pecuária na região do Arenito Caiuá. Londrina, Universidade Estadual de Londrina, 2011. 54p. (**Especialização em administração Pública para gestores do sistema estadual de agricultura**).

ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**. Oxford, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ANDREWS, J.H.; HARRIS, R.F. R- and K-selection and microbial ecology. **Advanced Microbial Ecology**, v. 9, p. 99-147, 1986.

ANDREWS, S.S.; KARLEN, D.L.; CAMBARDELLA, C.A. The soil management assessment framework: a quantitative soil quality evaluation method. **Soil Science Society of America Journal**, v.68, p.1945-1962, 2004.

ANGHINONI, I.; MORAES, A.; CARVALHO, P. C. F.; SOUZA, E. D.; CONTE, O. & LANG, C. R Benefícios da integração lavoura-pecuária sobre a fertilidade do solo em sistema plantio direto. In: Da Fonseca, A.F.; Caires, E.F.; Barth, G. **Fertilidade do solo e nutrição de plantas no sistema plantio direto**. AEACG/Inpag: Ponta Grossa, 2011.

ARAUJO, A. S. F; MONTEIRO, R, T, R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v.23, n. 3, p. 66-75, 2007.

ARAUJO, E. A.; KER, J. C.; NEVES, J. C. L.; LANI, J.L. Qualidade do solo: Conceitos, indicadores e avaliações. **Revista Brasileira de tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**. v.5, n.1, p.187-206, 2012.

ARAÚJO, J.F.; CASTRO, A. P.; COSTA, M.M.C.; TOGAWA, R.C.; PAPPAS, G.J.; QUIRINO, B.F.; BUSTAMANTE, M.M.C.; WILLIAMSON, L.; HANDELSMAN, J.; KRÜGER, R. H. Characterization of soil bacterial assemblies in Brazilian savanna-like vegetation reveals Acidobacteria dominance. **Microbial Ecology**, n. 64, v. 3, p. 760-770, 2012.

ARMENISE, E.; REDMILE-GORDON, M. A.; STELLACCI, A. M.; CICCARESE, A.; RUBINO, P. Developing a soil quality index to compare soil fitness for agricultural use under different managements in the Mediterranean environment. **Soil Tillage Research**, v.130, p.91-98, 2013.

ASHAD, M.A.; LOWER, B.; GROSSMAN, B. Physical tests for monitoring soil quality. **In:** DORAN, J.W.; JONES, A.J. (Eds.). Methods for assessing soil quality. **Soil Science Society of America**, p.123- 141, 1996. (Special publication, 49).

ASKIN, T.; KIZILKAYA, R. Organic and microbial biomass carbon contents of aggregates in a toposequence of pasture soils. **Asian Journal Chemistry**., v.18, p. 1500–1508. 2006.

BAGGIO, C. Comportamento em pastejo de novilhos numa pastagem de inverno submetida a diferentes alturas de manejo em sistema de integração lavoura-pecuária. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007. 87p. (Dissertação de Mestrado)

BALOTA, E. L. ; ANDRADE, D. S. ; COLOZZI FILHO, A. ; DICK, R. P. . Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, p. 15-20, 2003.

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, 2004b

BALOTA, E. L. ; KANASHIRO, M. ; COLOZZI FILHO, A. ; ANDRADE, D. S. ; DICK, R. P. . Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 300-306, 2004a

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**, 22:641-649, 1998.

BALOTA, E.L.; YADA, I. F.; AMARAL, H.; NAKATANI, A.S.; DICK, R.P. & COYNE, M.S. Long-Term Land use influences soil microbial biomass P and S, phosphatase and arylsulfatase activities, and S mineralization in a Brazilian Oxisol. **Land Degradation Development**., 25: 397–406, 2014.

BARROS, N. F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M. (Ed.) **Tópicos Especiais em Ciências do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 196-275. 2002.

BEARE, M.H.; BRUCE, R.R. A comparison of methods for measuring water-stable aggregates: implications for determining environmental effects on soil structure. **Geoderma**, v.56, n.1, p87-104, 1993.

BENNDORF, D., BALCKE, G. U., HARMS, H., & VON BERGEN, M. Functional metaproteome analysis of protein extracts from contaminated soil and groundwater. **The ISME journal**, 1(3), 224-234, 2007.

BERGMANN, G. T.; BATES, S. T.; EILERS, K. G.; LAUBER, C. L.; CAPORASO, J. G.; WALTERS, W. A.; KNIGHT, R.; FIERER, N. The under-recognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities. **Soil Biology & Biochemistry**, v, 43, n. 7, p. 1450–1455, 2011.

BHERING, S. B.; SANTOS, H. G. Mapa de Solos do Estado do Paraná. Embrapa Florestas, Embrapa Solos. 2008.

BLAGODATSKAYA, E. V., BLAGODATSKY, S. A., ANDERSON, T. H., & KUZYAKOV, Y. Priming effects in Chernozem induced by glucose and N in relation to microbial growth strategies. **Applied soil ecology**, 37(1), 95-105, 2007.

BLAGODATSKAYA, E.V.; BLAGODATSKY, S.A.; ANDERSON, T-H.; KUZYAKOV, Y. Priming effects in Chernozem induced by glucose and N in relation to microbial growth strategies. **Applied Soil Ecology**, v. 37, p. 95–105, 2007.

BÖHME, L.; LANGER, U. & BÖHME, F. Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiments. **Agric. Ecosys. Environm.**, 109:141-152, 2005

BONETTI, João de Andrade et al. Atributos físicos do solo em sistema de integração lavoura-pecuária submetido a intensidades de pastejo no cerrado. 2013.

BRASIL. Decreto no 7.390, de 09 de dezembro de 2010. Regulamenta os arts. 6, 11 e 12 da Lei no 12.187, de 29 de dezembro de 2009, que institui a Política Nacional sobre Mudança do Clima - PNMC, e dá outras providências. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, 09 dez. 2010.

BRASIL. Lei no 12.187, de 29 de dezembro de 2009 (Lei Ordinária). Institui a Política Nacional sobre Mudança do Clima e dá outras providências. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, 29 dez. 2009. Seção Extra, p. 109, Coluna 2. 2009.

BRONICK, Cr J.; LAL, R. Manuring and rotation effects on soil organic carbon concentration for different aggregate size fractions on two soils in northeastern Ohio, USA. **Soil and Tillage Research**, v. 81, n. 2, p. 239-252, 2005.

BROOKES, P.C.; LANDMAN, A; PRUDEN, G. & JENKINSON, D.S. Chloroform fumigation and the re-release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, 17:837-842, 1985.

BROWN, K.S. Insetos como rápidos e sensíveis indicadores de uso sustentável de recursos naturais. In: MARTOS, H.L. & MAIA, N.B. **Indicadores ambientais**. 1ºed. Sorocaba: s.n. p.143-151. 1997.

BRUCE, T.; MARTINEZ, I. B.; MAIA NETO, O.; VICENTE, A. C. P.; KRUGER, R.H. THOMPSON, F.L. (2010). Bacterial community diversity in de Brazilian Atlantic Forest Soils. **Microbial Ecology**. V. 60, n.4, p-840-849, 2010.

- BUCKLEY, D. H., & SCHMIDT, T. M. Environmental factors influencing the distribution of rRNA from Verrucomicrobia in soil. **FEMS microbiology ecology**, 35(1), 105-112, 2001.
- BULGARELLI, D.; SCHLAEPPI, K.; SPAEPEN, S.; VAN THEMAAT, E. V. L.; SCHULZE-LEFERT, P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. **Annual Review of Plant Biology**, [s.l.], v. 64, p. 807-838, 2013.
- CÂNDIDO, B. M.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; FREITAS, D. A. F. de; RONALDO LUIZ MINCATO, R. L.; Ferreira, m. m.; Métodos de indexação de indicadores na avaliação da qualidade do solo em relação à erosão hídrica. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 39, n. 2, p.589-597, 2015.
- CANTERI, M.G.; ALTHAUS, R.A.; VIRGENS FILHO, J.S.; GIGLIOTI, E.A.; GODOY, C.V. SASM-Agri: sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, Ponta Grossa, v. 1, n. 2, p. 18-24, 2001.
- CAPORASO, J.G.; BITTINGER, K.; BUSHMAN, F.D.; DESANTIS, T.Z.; ANDERSEN, G.L.; KNIGHT, R. PyNASt: a flexible tool for aligning sequences to a template alignment. **Bioinformatics**, Oxford, v. 26, p. 266–267, 2010a.
- CAPORASO, J.G.; KUCZYNSKI J.; STOMBAUGH J.; BITTINGER K.; BUSHMAN F.D.; COSTELLO E.K.; FIERER, N.; PEÑA, A.G.; GOODRICH, J.K.; GORDON, J.I.; HUTTLEY, G.A.; KELLEY, S.T.; KNIGHTS, D.; KOENIG, J.E.; LEY, R.E.; LOZUPONE, C.A.; MCDONALD, D.; MUEGGE, B.D.; PIRRUNG, M.; REEDER, J.; SEVINSKY, J.R.; TURNBAUGH, P.J.; WALTERS, W.A.; WIDMANN, J.; YATSUNENKO, T.; ZANEVELD, J.; KNIGHT, R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature Methods**, New York, v. 7, p. 335–336, 2010b.
- 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.
- CARNEIRO, M. A. C., CORDEIRO, M. A. S., ASSIS, P. C. R., MORAES, E. S., PEREIRA, H. S., PAULINO, H. B., & SOUZA, E. D. Produção de fitomassa de diferentes espécies de cobertura e suas alterações na atividade microbiana de solo de cerrado. **Bragantia**, 67(2), 455-462, 2008.
- 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 Agropecuaria Brasileira**, 39:661-669, 2004.
- CARPENEDO, V.; MIELNICZUK, J. **Estado de agregação e qualidade de agregados de Latossolos Roxos, submetidos a diferentes sistemas de manejo**. 1990.
- CARVALHO, P. C. F.; ANGHINONI, I.; MORAES, A.; LANG, C. R.; SULC, R. M.; SOUZA, E. D.; BAYER, C. Indicadores para avaliar sistemas de integração lavoura e

pecuária de corte. In: Silva, J.L.S. et al. (Eds.) **Workshop Integração Lavoura-Pecuária-Floresta no Bioma Pampa**, Pelotas, 2009.

CARVALHO, P. C. F.; ANGHINONI, I.; MORAES, A.; TREIN, C. R.; FLORES, J. P. C.L; CEPIK, C. T.C.; LEVIEN, R.; LOPES, M. T.; BAGGIO, C.; LANG, C. R; SULC, R. M.; PELISSARI, A. O estado da arte em integração lavoura-pecuária. In: Gottschall, C. S.; Silva, J. L. S.; Rodrigues, N. C. (Org.). **Produção animal: mitos, pesquisa e adoção de tecnologia**. Canoas-RS, p.7-44, 2005.

CARVALHO, P.C.F.; KUNRATH, T.R.; DAMIAN, F.; BARTH NETO, A.; BARRO, R.S.; SAVIAN, J.;PFEIFER, F.; ANGHINONI, I. Experiências em ILP no Rio Grande do Sul. III **Encontro de Integração Lavoura-Pecuária no Sul do Brasil**, Pato Branco PR. 05 a 07 de julho de 2011.

CARY, N. C. SAS/STAT User's guide. **SAS Institute Inc. Version**, v. 6, 1989.

CASTRO FILHO, C.; MUZILLI, O.; PODANOSCHI, A. L. Estabilidade dos agregados e sua relação com o teor de carbono orgânico num Latossolo roxo distrófico, em função de sistemas de plantio, rotação de culturas e métodos de preparo das amostras. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.22, p.527-538, 1998.

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.

CAVALLINI, M.C.; ANDREOTTI, M.; OLIVEIRA, L.L.; PARIZ, C.M.; CARVALHO, M.P. Relações entre produtividade de *Brachiaria brizantha* e atributos físicos de um Latossolo do cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 34, p.1007-1015, 2010.

CAVIGLIONE, J.H.; KIIHL, L.R.B.; CARAMORI, P.H.; OLIVEIRA, D. & PUGSLEY, L. **Cartas climáticas do Paraná**. Edição ano 2000, versão 1.0. Londrina, IAPAR, 2000. CD-ROM

CERVANTES, V.N.M. Atributos microbiológicos do solo auxiliam na explicação de níveis de produtividade de soja sob plantio direto no Paraná. Londrina, Universidade Estadual de Londrina, 2012. 58p (Dissertação de Mestrado)

CHABRERIE, O., LAVAL, K., PUGET, P., DESAIRE, S., & ALARD, D. Relationship between plant and soil microbial communities along a successional gradient in a chalk grassland in north-western France. **Applied Soil Ecology**, 24(1), 43-56, 2003.

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, n.6, p.1381-1396, 2007.

CHAIEB, M.; BELGACEM, H.; MAKKI, B. Impact of clipping on root systems of 3 grasses species in Tunisia. **J. Range Manage.**, v. 49, p. 336-339, 1996.

CHAO, A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population. **Scandinavian Journal of Statistics**, Oxford, v. 11, p. 265-270, 1984.

CHAO, A.; LEE, S.M. Estimating the number of classes via sample coverage. **Journal of the American Statistical Association**, Boston, v. 87, n. 417, p. 210-217, 1992.

CHAO, A.; SHEN, T.J. Nonparametric estimation of Shannon's index of diversity when there are unseen species in sample. **Environmental and Ecological Statistics**, London, v. 10, p. 429-443, 2003.

CHAVÉZ, L.F., ESCOBAR, L.F., ANGHINONI, I., CARVALHO, P.C.F. & MEURER, E.J. Diversidade metabólica e atividade microbiana no solo em sistema de integração lavoura-pecuária sob intensidades de pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46:1254-1261, 2011.

CLEGG, C.D. Impact of cattle grazing and inorganic fertilizer additions to managed grasslands on the microbial community composition of soils. **Applied Soil Ecology**, 31:73-82, 2006.

COMPTON, J. E., & BOONE, R. D. Long-term impacts of agriculture on soil carbon and nitrogen in New England forests. **Ecology**, 81(8), 2314-2330, 2000.

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**, 26:925-930, 2002.

CONTE, O., FLORES, J. P. C., CASSOL, L. C., ANGHINONI, I., DE FACCIÓ CARVALHO, P. C., LEVIEN, R., & DE LIMA WESP, C. Evolução de atributos físicos de solo em sistema de integração lavoura-pecuária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46(10), 1301-1309, 2012.

COUTINHO, H.L.C.; OLIVEIRA, V.M.; MANFIO, G.P. Diversidade microbiana em amostras ambientais. In: GARAY, I.E.G.; DIAS, B.F.S. **Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais: avanços conceituais e revisão de novas metodologias de avaliação e monitoramento**. Petrópolis, Editora Vorazes, , 403 p. 2001.

CROWFORD, J.W.; DEACON, L.; GRINEV, D.; HARRIS, J.A.; RITZ, K.; SINGH, B.K.; YOUNG, I. Microbial diversity affects self-organization of the soil-microbe system with consequences for function. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 9, 1302-1310. 2012.

D'ANDRÉA, A.F.; SILVA, M.L.N.; CURI, N.O.; SIQUEIRA, J.O. & CARNEIRO, M.A.C. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em diferentes sistemas de manejo do solo na região do cerrado no sul do Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, 26:913-923, 2002.

DA ROCHA, U. N., PLUGGE, C. M., GEORGE, I., VAN ELSAS, J. D., & VAN OVERBEEK, L. S. The rhizosphere selects for particular groups of Acidobacteria and Verrucomicrobia. **PLoS One**, 8(12), e82443, 2013.

DA SILVA, I.; MIELNICZUK, J. Ação do sistema radicular de plantas na formação e estabilização de agregados do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, n. 1, p. 113-117, 1997.

- DANG, H., LI, J., CHEN, R., WANG, L., GUO, L., ZHANG, Z., & KLOTZ, M. G. Diversity, abundance, and spatial distribution of sediment ammonia-oxidizing betaproteobacteria in response to environmental gradients and coastal eutrophication in Jiaozhou Bay, China. **Applied and environmental microbiology**, 76(14), 4691-4702, 2010.
- DANIEL, R. The metagenomics of soil. **Nature Reviews Microbiology**, 3(6), 470-478, 2005.
- DAUBIN, V., MORAN, N. A., & OCHMAN, H. Phylogenetics and the cohesion of bacterial genomes. **Science**, 301(5634), 829-832, 2003.
- DE OLIVEIRA-LONGATTI, SILVIA MARIA ET AL. Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth promoters. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 4, p. 1239-1250, 2014.
- 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. Madison: **Soil Science Society of America**, p.107-124, 1994.
- DICK, R.P.; BREAKWELL, D.P; TURCO, R. Soil enzyme activities and biodiversity measurements. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J., ed. **Methods for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.247-272. (Special publication number, 49).
- 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 sustainable environment. Madison, **Soil Science Society of America**, v.35, p.3-21. 1994.
- DORAN, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. *Soil Sci.* **Soil Science Society of America**., v.44, p.765-771. 1980.
- DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (Eds.). **Methods for assessing soil quality**. Wisconsin, USA: Soil Science Society American. p.25-37, 1996.
- DORAN, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. *Soil Sci.* **Soil Science Society of America** v.44, p.765-771. 1997.
- EKENLER, Mine; TABATABAI, M. A. Effects of liming and tillage systems on microbial biomass and glycosidases in soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 39, n. 1, p. 51-61, 2003.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3. ed. ver. ampl. Brasília, DF: Embrapa, 353 p. 2013.

FARIAS, M. D. O. Conteúdo e qualidade da matéria orgânica em sistemas de uso e manejo do solo no Bioma Pampa, 2010.

FELLER, CHRISTIAN; BEARE, M. H. Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. **Geoderma**, v. 79, n. 1-4, p. 69-116, 1997.

FERREIRA, A. C. C., LEITE, L. F. C., ARAÚJO, A. S. F., & EISENHAUER, N. Land-Use Type Effects on Soil Organic Carbon and Microbial Properties in a Semi-arid Region of Northeast Brazil. **Land Degradation & Development**, 2016.

FIDALSKI, JONEZ. Qualidade física de Latossolo Vermelho em sistema de integração lavoura-pecuária após cultivo de soja e pastejo em braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 11, p. 1097-1104, 2015.

Fierer, N., Ladau, J., Clemente, J. C., Leff, J. W., Owens, S. M., Pollard, K. S., ... & McCulley, R. L. Reconstructing the microbial diversity and function of pre-agricultural tallgrass prairie soils in the United States. **Science**, v. 342, n.6158, 621-624, 2013.

FITTER, A. H., GILLIGAN, C. A., HOLLINGWORTH, K., KLECZKOWSKI, A., TWYMAN, R. M., & PITCHFORD, J. W. Biodiversity and ecosystem function in soil. **Functional Ecology**, 19(3), 369-377, 2005.

FLORES, J.P.C.; ANGHINONI, I.; CASSOL, L.C.; CARVALHO, P.C.F.; LEITE, J.G.D.B. & FRAGA, T.I. Atributos físicos do solo e rendimento de soja em sistema plantio direto em integração lavoura-pecuária com diferentes pressões de pastejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 31:771-780, 2007.

FLORES, J.P.C.; CASSOL L.C.; ANGHINONI I.; CARVALHO P.C.F. Atributos químicos do solo em sistema de integração lavoura-pecuária sob plantio direto com aplicação superficial de calcário. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.2385 - 2396, 2008.

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 and Tillage Research**, Dordrecht, v. 92, p. 18-29, 2007.

FRANCHINI, J. C.; VELINI, C. L.; BALBINOT-JR, A. A.; DEBIASI, H.; WATANABE, R. H. Integração Lavoura-Pecuária em solo arenoso e clima quente: duas décadas de experiência, 12 p. (Embrapa Soja. **Circular Técnica**, 118) 2016.

GARCÍA PRÉCHAC, F. Propiedades físicas y erosión en rotaciones de cultivos y pasturas. **INIA Investigaciones Agronómicas**, v. 1, p. 127-140, 1992.

GARCIA, M. R. L.; NAHAS, E. Biomassa e atividades microbianas em solo sob pastagem com diferentes lotações de ovinos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 2, p. 269-276, 2007.

Garland, J. L. Patterns of potential C source utilization by rhizosphere communities. **Soil Biology and Biochemistry**, 28(2), 223-230, 1996.

GHANI, A.; DEXTER, M.; PERROTT, K. W. Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 35, n. 4, p. 1231-1243, 2003.

GIACOMETTIA, C.; DEMYANB, M. S.; CAVANIA, L.; MARZADORIA, C. C.; KANDELER, E. Chemical and microbiological soil quality indicators and their potential to differentiate fertilization regimes in temperate agroecosystems. **Applied Soil Ecology**, [s.l.], v. 64, p. 32–48, 2013.

GONÇALVES, SERGIO LUIZ; FRANCHINI, JÚLIO CEZAR. **Integração lavoura-pecuária**. Embrapa Soja, 2007.

GRAYSTON S J, CAMPBELL 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 AND MILLARD P. Assessing shifts in microbial community structure across a range of grasslands of differing management intensity using CLPP, PLFA and community DNA techniques. **Applied Soil Ecology**. 25, 63– 84, 2004.

HAAS, B.J.; GEVERS, D.; EARL, A.M.; FELDGARDEN, M.; WARD, D.V.; GIANNOUKOS, G.; CIULLA, D.; TABBA, D.; HIGHLANDER, S.K.; SODERGREN, E.; METHÉ, B.; DESANTIS, T.Z.; PETROSINO, J.F.; KNIGHT, R.; BIRREN, B.W. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. **Genome Research**, Woodbury, v. 21, p. 494–504, 2011.

HAMZA, M.A.; ANDERSON, W.K. Soil compaction in cropping systems. A review of the nature, causes and possible solutions. **Soil and Tillage Research**, v. 82, p. 121-145, 2005.

HATCH, D. J., LOVELL, R. D., ANTIL, R. S., JARVIS, S. C., & OWEN, P. M. Nitrogen mineralization and microbial activity in permanent pastures amended with nitrogen fertilizer or dung. *Biology and Fertility of soils*, 30(4), 288-293, 2000.

HEDLUND, B. P., GOSINK, J. J., & STALEY, J. T. Verrucomicrobia div. nov., a new division of the bacteria containing three new species of Prostheco bacter. **Antonie van Leeuwenhoek**, 72(1), 29-38, 1997.

HERRICK, J. E. Soil quality: an indicator of sustainable land management? **Applied Soil Ecology**, Elsevier, v. 15, n. 1, p. 75 – 83, 2000.

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.

HOLLOWAY, J.D. & STORK, N.E. The dimension of biodiversity: The use of invertebrates as indicators of human impact. In: HAWKSWORTH, D.L. (ed). **The biodiversity of microorganisms and invertebrates: Its role in sustainable agriculture**. CAB International, Wallington, Oxon, UK. p. 37-63. 1991.

- HUGENHOLTZ, P.; GOEBEL, B.M.; PACE, N.R. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. **Journal of Bacteriology**, 180, p.4765-4774, 1998.
- 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. online, p. 1, 2009.
- IGLESIAS, J.O.; GALANTINI, J.A.; KRÜGER, H.; VENANZI, S. Soil pore distribution as affected by cattle trampling under no-till and reduced-till systems. **Agriscientia**, v. 31, n. 2, p. 93-102, 2014.
- INSAM, H. & HASSELWANDTER, K. Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession. **Oecologia**, 79:174-178, 1989.
- INSAM, H. Developments in soil microbiology since the mid 1960s. **Geoderma**, v. 100, n. 3, p. 389-402, 2001.
- JANSSEN, P. H. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. **Applied and environmental microbiology**, 72(3), 1719-1728, 2006.
- JUNIOR, A. B., MORAES, A., VEIGA, M., PELISSARI, A., & DIECKOW, J. Integração lavoura-pecuária: intensificação de uso de áreas agrícolas. **Cienc. Rural** 39, 1925-1933, 2009.
- KAN, F.L.; CHEN, Z.Y.; WANG, E.T.; TIAN, C.F.; SUI, X.H; CHEN, W.X. Characterization of symbiotic and endophytic bacteria isolated from root nodules of herbaceous legumes grown in Qinghai-Tibet plateau and in other zones of China. **Archives of Microbiology**, v.188, p.103-115, 2007.
- KARLEN, D.L.; MAUSBACH, M.J.; DORAN, J.W.; CLINE, R.G.; HARRIS, R.F.; SCHUMAN, G.E. Soil quality: a concept, definition and framework for evaluation. **Soil Science Society America Journal**, v.61, n.1, p.4-10, 1997.
- 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 and Biochemistry**, 42:1-13, 2009.
- KEISER, A.D.; STRICKLAND, M.S.; FIERER, N.; BRADFORD, M.A. The effect of resource history on the functioning of soil microbial communities is maintained across time. **Biogeosciences**, 8, p.1477-1486. 2011.
- KENNEDY, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 74, n. 1, p. 65-76, 1999.
- KIELAK, A., PIJL, A. S., VAN VEEN, J. A., & KOWALCHUK, G. A. Differences in vegetation composition and plant species identity lead to only minor changes in soil-borne microbial communities in a former arable field. **FEMS Microbiology Ecology**, 63(3), 372-382, 2008.

KOHLER, F., HAMELIN, J., GILLET, F., GOBAT, J. M., & BUTTLER, A. Soil microbial community changes in wooded mountain pastures due to simulated effects of cattle grazing. **Plant and Soil**, 278(1), 327-340, 2005.

LARKIN, R. P. Characterization of soil microbial communities under different potato cropping systems by microbial population dynamics, substrate utilization, and fatty acid profiles. **Soil Biology and Biochemistry**, 35(11), 1451-1466, 2003.

LAVELLE, P., T. DECAËNS, M. AUBERT, S. BAROT, M. BLOUIN, F. BUREAU, P. MARGERIE & J-P. MORA. Soil invertebrates and ecosystem services. **European Journal of Soil Biology**. 42: 3-15, 2006.

LIMA, O. G. de. Indicadores físicos, químicos e biológicos da qualidade do solo em plantios florestais e floresta ombrófila mista na Embrapa florestas, Colombo-PR. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

LINNARTZ, N.E.; HSE C.Y; DUVALL, V.L. Grazing impairs physical properties of a forest soil in central Louisiana. **Journal of Forest Soil Research**, v.64, p.239–243, 1996.

MACEDO, H. S. D. Comunidades bacterianas em solos de mata nativa e cultivados com cana-de-açúcar, 2012

MACHADO, L. A. Z., BALBINO, L. C., & CECCON, G. Lavoura-Pecuária-Floresta. 1. **Estruturação dos Sistemas de Integração Lavoura-Pecuária**, 2011.

MARTINEZ-SALGADO M,M.; GUTIÉRREZ,R. V.; JANNSENS, M.; ORTEGA,B. R. Biological soil quality indicators: a review. *Formatex. A pesquisa atual, Tecnologia e Ensino* **Tópicos de Microbiologia Aplicada e Biotecnologia Microbiana**, p.319-328, 2010.

MARTINS, A. P., KUNRATH, T. R., ANGHINONI, I., CARVALHO, PC de F. et al. Integração soja-bovinos de corte no Sul do Brasil. **Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2015.

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.

MATTOS, M.L.T. Microbiologia do Solo. In: NUNES,R. R.; REZENDE,M. O. O. (Org.). **Recurso Solo: Propriedades e Usos**. São Carlos: Editora Cubo, p. 250-272, 2015.

McGEOCH, M.A. The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators. **Biology Review**, v.73, p.181-201, 1998.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; REIS JUNIOR, F. B.; FERNANDES, M. F.; CHAER, G. M.; MERCANTE, F. M.; ZILLI, J. Bioindicadores para Avaliação da Qualidade dos Solos Tropicais: utopia ou realidade? Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009. p. 31. Documentos 246. Disponível em:

<<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/856406/1/bioindicadores.pdf>>. Acesso em: 24/05/2016.

MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F. B.; HUNGRIA, M.; FERNANDES, M. F.; CHAER, G. M.; MERCANTE, F. M.; ZILLI, J. Microbiologia do solo e sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M. de; REIS JUNIOR, F. B. dos (Ed.). **BIOTECNOLOGIA estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011, p. 219-244.

MENDES, I.C.; SOUZA, D.M.G.; REIS JUNIOR, F.B. Bioindicadores de qualidade de solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 32, n. 1/2, p. 191-209, 2015.

MENDES, I.C.; SOUZA, L. V.; RESCK, D. V. S.; GOMES, A. C. Propriedades biológicas em agregados de um LE 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. da; SOUSA-SILVA, J. C. (Ed.). **Cerrado: caracterização e recuperação de Matas de Galeria**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 2001, p. 664-687, 2001.

MENDES, L. W., & TSAI, S. M. Variations of Bacterial Community Structure and Composition in Mangrove Sediment at Different Depths in Southeastern Brazil. **Diversity**, 6(4), 827-843, 2014.

MENDES, L. W., TSAI, S. M., NAVARRETE, A. A., DE HOLLANDER, M., VAN VEEN, J. A., & KURAMAE, E. E. Soil-borne microbiome: linking diversity to function. **Microbial ecology**, 70(1), 255-265, 2015

MERCANTE, F. M., DA SILVA, R. F., FRANCELINO, 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**, n. 30, v.4, p.479-485, 2008.

MICHEL, C., JOULIAN, C., OLLIVIER, P., NYTEIJ, A., COTE, R., SURDYK, N., & GARRIDO, F. Multi-Bioindicators to Assess Soil Microbial Activity in the Context of an Artificial Groundwater Recharge with Treated Wastewater: A Large-Scale Pilot Experiment. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 24, n.6, 843-853, 2014.

MOFFATT, S.F.; McLACHLAM, S.M. Understorey indicators of disturbance for riparian forests along an urban-rural gradient in Monitoba. **Ecological Indicators**, v.4, n.1, p.1-16, 2004.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006.

MOREIRA, W.H.; BETIOLI JUNIOR, E.; PETEAN, L.P.; TORMENA, C.A.; ALVES, S.J.; COSTA, M.A.T. & FRANCO, H.H.S. Atributos físicos de um Latossolo Vermelho distroférico em sistema de integração lavourapecuária. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 36:389-400, 2012.

MOTT, G.O.; LUCAS, H.L. The design, conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: **Proceeding of 6. International Grassland Congress**; Aug 17-22 1952; Pennsylvania. Pennsylvania: State College Press; p.1380-5, 1952.

NATIONAL INSTITUTE FOR PUBLIC HEALTH. Disponível em: <www.rivm.nl/en>. Acessado em 30 de mai. 2016.

NAVEED, M., HERATH, L., MOLDRUP, P., ARTHUR, E., NICOLAISEN, M., NORGAARD, T., & DE JONGE, L. W. Spatial variability of microbial richness and diversity and relationships with soil organic carbon, texture and structure across an agricultural field. **Applied Soil Ecology**, 103, 44-55, 2016.

NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Indicadores microbiológicos da qualidade do solo. In: III Reunião Paranaense de Ciência do Solo, 3., 2013, Londrina- Pr. Anais... . Londrina- PR: SBCS, 2013. p. 539 - 544. Disponível em<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/84589/1/Indicadoresmicrobiologicos-da-qualidade-do-solo.pdf>>. Acesso em: 24/05/2016.

NOGUEIRA, M. A.; MELO, W. J. Enxofre disponível para a soja e atividade de arilsulfatase em solo tratado com gesso agrícola. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 4, p. 655-663, 2003.

NUNES DA ROCHA, U.; PLUGGE, C. M.; GEORGE, I.; VAN ELSAS, J. D.; VAN OVERBEEK, L. S. The Rhizosphere Selects for Particular Groups of Acidobacteria and Verrucomicrobia. **PLoS ONE**, v. 8, n. 12, 2013.

OLIVEIRA, A. L. M. de; COSTA, K. dos R.; FERREIRA, D. C.; MILANI, K. M. L.; SANTOS, O. J. A. P. dos; SILVA, M. B.; ZULUAGA, M. Y. A. Aplicações da biodiversidade bacteriana do solo para a sustentabilidade da agricultura. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 3, n. 1, p. 56-77, 2014.

PAN, YAO ET AL. Impact of long-term N, P, K, and NPK fertilization on the composition and potential functions of the bacterial community in grassland soil. **FEMS microbiology ecology**, v. 90, n. 1, p. 195-205, 2014.

PANKHURST, Clive; DOUBE, Bernard M.; GUPTA, V. V. S. R. (Ed.). **Biological indicators of soil health**. Wallingford, UK: Cab International, 1997

PARENTE, H.N.; MAIA, M.O. Impacto do pastejo sobre a compactação dos solos com ênfase no Semiárido. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 5, n. 3, pág. 3-15, 2011.

PARKS, D.H.; BEIKO, R.G. Identifying biologically relevant differences between metagenomic communities. **Bioinformatics**, Oxford, v. 26, p. 715–721, 2010.

PAVAN, M.A.; BLOCH, M.F.; ZEMPULSKI, H.D.; MIYAZAWA, M. & ZOCOLER, D.C. **Manual de análise química do solo e controle de qualidade**. Londrina, IAPAR, 40p. (Circular, 76).1992.

PEIXOTO, F.G.T., Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos do estado de São Paulo sob vegetação nativa e cultivados (Dissertação). Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, 2010.

PEREIRA, A. V., HUNGRIA, M., FRANCHINI, J. C., KASCHUK, G., CHUEIRE, L. D. 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 (1). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n.6, 1397-1412, 2007.

PIETOLA, L.; HORN, R.; YLI-HALLA, M. Effects of trampling by cattle on the hydraulic and mechanical properties of soil. **Soil and Tillage Research**, v. 82, p. 99-108, 2005.

PINI, Francesco et al. Plant-bacteria association and symbiosis: are there common genomic traits in Alphaproteobacteria?. **Genes**, v. 2, n. 4, p. 1017-1032, 2011.

PITOMBO, Leonardo M. et al. Exploring soil microbial 16S rRNA sequence data to increase carbon yield and nitrogen efficiency of a bioenergy crop. **Gcb Bioenergy**, 2015.

PÔRTO, M. L., ALVES, J. D. C., DINIZ, A. A., SOUZA, A. P. D., & SANTOS, D. Biological indicators of soil quality in different land use systems in paraiban swamp region, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, n,33 v.4, p.,1011-1017, 2009

PRICE, M.N.; DEHAL, P.S.; ARKIN, A.P. Fast tree: computing large minimum-evolution trees with profiles instead of a distance matrix. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 26, p. 1641-1650, 2009.

PRIETO LH, BERTILLER MB, CARRERA AL, OLIVERA NL. Soil enzyme and microbial activities in a grazing ecosystem of Patagonian Monte, Argentina. *Geoderma*. 2011;162:281-7.

PULROLNIK, K., BARROS, N. D., SILVA, I. R., NOVAIS, R. F., & BRANDANI, C. B. (2009). Estoques de carbono e nitrogênio em frações lábeis e estáveis da matéria orgânica de solos sob eucalipto, pastagem e cerrado no vale do Jequitinhonha-MG. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33(5), 1125-1136.

QUAISER, A., OCHSENREITER, T., LANZ, C., SCHUSTER, S. C., TREUSCH, A. H., ECK, J., & SCHLEPER, C. Acidobacteria form a coherent but highly diverse group within the bacterial domain: evidence from environmental genomics. **Molecular microbiology**, 50(2), 563-575, 2003.

RAMIREZ, K. S., CRAINE, J. M., & FIERER, N. Consistent effects of nitrogen amendments on soil microbial communities and processes across biomes. **Global Change Biology**, 18(6), 1918-1927. 2012

RAMPELOTTO, Pabulo Henrique et al. Changes in diversity, abundance, and structure of soil bacterial communities in Brazilian Savanna under different land use systems. **Microbial ecology**, v. 66, n. 3, p. 593-607, 2013.

REID, Jeffrey B.; GOSS, Michael J. Changes in the aggregate stability of a sandy loam effected by growing roots of perennial ryegrass (*Lolium perenne*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 31, n. 3, p. 325-328, 1980.

REIS JUNIOR, F. B. dos; MENDES, I. de C. **Biomassa microbiana do solo**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. p. 40. Documentos 205, 2007

RETHEMEYER, J.; KRAMER, C.; GLEIXNER, G.; JOHN, B.; YAMASHITA, T.; FLESSA, H.; ANDERSEN, N.; NADEAU, M.J. & GROOTES, P.M. Transformation of organic matter in agricultural soils: radiocarbon concentration versus soil depth. *Geoderma*, 128:94-105, 2005.

RICE, C. W.; MOORMAN, T. B; BEARE, M. **Role of microbial biomass carbon and nitrogen in soil quality**. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J., (Ed.). *Methods for assessing soil quality* Madison: Soil Science Society of America, p.203-216, 1996.

ROSCOE, R.; BODDEY, R.M; SALTON, J. C. **Sistemas de manejo e matéria orgânica do solo**. In: ROSCOE, R.; MERCANTE, F. B.; SALTON, J. C.(Ed.) *Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionistas: modelagem matemática e métodos auxiliares*. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. p. 17-42.

SAIT, M., DAVIS, K. E., & JANSSEN, P. H. Effect of pH on isolation and distribution of members of subdivision 1 of the phylum Acidobacteria occurring in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, 72(3), 1852-1857, 2006

SALTON, J. C., MIELNICZUK, J., BAYER, C., BOENI, M., CONCEIÇÃO, P. C., FABRÍCIO, A. C., BROCH, D. L. (2008). Agregação e estabilidade de agregados do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. *Revista brasileira de ciencia do solo. Campinas. Vol. 32, n. 1 (jan./fev. 2008), p. 11-21.*

SALTON, Julio Cesar. *Matéria orgânica e agregação do solo na rotação lavoura-pastagem em ambiente tropical*. 2005.

SCHINNER, F.; VON MERSE, W. Xylanase-, CM-cellulase-and invertase activity in soil: an improved method. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 22, n. 4, p. 511-515, 1990.

SCHNÜRER, Johan; ROSSWALL, Thomas. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. **Applied and environmental microbiology**, v. 43, n. 6, p. 1256-1261, 1982.

SETÄLÄ, H., & MCLEAN, M. A. Decomposition rate of organic substrates in relation to the species diversity of soil saprophytic fungi. **Oecologia**, 139(1), 98-107. 2004

SHANGE, R. S., ANKUMAH, R. O., IBEKWE, A. M., ZABAWA, R., & DOWD, S. E. Distinct soil bacterial communities revealed under a diversely managed agroecosystem. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e40338, 2012.

SHARROW, S.H. Soil compaction by grazing livestock in silvopastures as evidenced by changes in soil physical properties. **Agroforest Systems**, v. 71, p.215–223, 2007.

SHARROW, S.H.; ISMAIL, S. Carbon and nitrogen storage in agroforests, forests, and pastures in western Oregon, USA. **Agroforest Systems**, v. 60, p.123–130, 2004.

SILVA, A. S. D., COLOZZI FILHO, A., NAKATANI, A. S., ALVES, S. J., ANDRADE, D. D. S., & GUIMARÃES, M. D. F. Microbial characteristics of soils under an integrated crop-livestock system. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 1, p. 40-48, 2015.

SILVA, A.P.; IMHOFF, S.; CORSI, M. Evaluation of soil compaction in an irrigated short-duration grazing system. **Soil and Tillage Research**, v. 70, p. 83-90, 2003.

SILVA, C. F. da; PEREIRA, M. G.; MIGUEL, D. L.; FEITORA, J. C. F.; LOSS, A.; MENEZES, C. E. G.; SILVA, E. M. R. DA. Carbono orgânico total, biomassa microbiana e atividade enzimática do solo de áreas agrícolas, florestais e pastagem no médio Vale do Paraíba do Sul (RJ). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, vol.36, n.6, p. 1680-1689, 2012.

SILVA, I.R. & MENDONÇA, E.S. Matéria orgânica do solo. In: NOVAIS, G.N.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, B. & NEVES, J.C.L., eds. Fertilidade do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.275-374.

SILVEIRA, A.O. Atividades enzimáticas como indicadores biológicos da qualidade de solos agrícolas do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007. 81p (Dissertação de Mestrado)

SIX, J.; FREY, S. D.; THIES, R. K.; BATTEN, K. M. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.70, n.2, p.555- 569, 2006.

SMIT, ERIC., LEEFLANG, P., GOMMANS, S., VAN DEN BROEK, J., VAN MIL, S., & WERNARS, K.. DIVERSITY and seasonal fluctuations of the dominant members of the bacterial soil community in a wheat field as determined by cultivation and molecular methods. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 5, p. 2284-2291, 2001.

SNAKIN, V.V.; KRECHETOV, P.P.; KUZOVNIKOVA, T.A.; ALYABINA, I.O.; GUROV, A.F.; STEPICHEV, A.V. The system of assessment of soil degradation. **Soil Technology**, v.8, n.4, p.331-343, 1996.

SOUZA, E. D. de. COSTA, S. E. V. G de A.; ANGHINONI, I.; LIMA, C. V. S de.; CARVALHO, P. C. de F.; MARTINSET, A. P. Biomassa microbiana do solo em sistema de integração lavoura-pecuária em plantio direto, submetido a intensidades de pastejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 1, p.79-88, 2010.

SOUZA, E.D. Evolução da matéria orgânica, do fósforo e da agregação em sistema de integração agricultura-pecuária em plantio direto, submetido a intensidades de pastejo. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 162p. (Tese de Doutorado)

SOUZA, Edicarlos Damacena de et al. Estoques de carbono orgânico e de nitrogênio no solo em sistema de integração lavoura-pecuária em plantio direto, submetido a intensidades de pastejo. **Revista brasileira de ciência do solo**, vol. 33, n. 6, p. 1829-1836, 2009.

SPAIN, Anne M.; KRUMHOLZ, Lee R.; ELSHAHED, Mostafa S. Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria. **The ISME journal**, v. 3, n. 8, p. 992-1000, 2009.

SPARLING, G. P.; WEST, Airlift Wing. A direct extraction method to estimate soil microbial C: calibration in situ using microbial respiration and ¹⁴C labelled cells. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 20, n. 3, p. 337-343, 1988.

SPERA, S. T., SANTOS, H. D., FONTANELI, R. S., & TOMM, G. O. (2010). Efeito de integração entre lavoura e pecuária sob plantio direto, em alguns atributos físicos do solo após dez anos. **Bragantia**, 69(3), 695-704.

SPERA, Silvio Tulio et al. Atributos físicos de um Hapludox em função de sistemas de produção integração lavoura-pecuária (ILP), sob plantio direto. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 1, p. 37-44, 2009.

STEFANIS, Christos et al. Principal methods for isolation and identification of soil microbial communities. **Folia microbiologica**, v. 58, n. 1, p. 61-68, 2013.

STEFANOSKI, D. C., SANTOS, G. G., MARCHÃO, R. L., PETTER, F. A., & PACHECO, L. P. Uso e manejo do solo e seus impactos sobre a qualidade física. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 17(12), 1301-1309, 2013.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. **Acta Agriculturae Scandinavia**, v. 49, p. 1-24, 1999.

STOCKMANN, Uta et al. The knowns, known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 164, p. 80-99, 2013.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. **Methods of Soil Analysis: Part 2—Microbiological and Biochemical Properties**, n. methodsofsoilan2, p. 775-833, 1994.

TAVARES FILHO, J. **Física e conservação do solo e água**. Eduel, Londrina, 256 p. 2013

TISDALL, J.M.; OADES, J.M. Organic matter and water stable aggregates in soils. **Journal of Soil Science**, v.33, n.1, p.141-163, 1982.

TORSVIK, V.; DAAE, F.L.; SANDAA, R.A.; ØVREAS, L. Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. Review article, **Journal of Biotechnology**, v. 64, p. 53–62, 1998.

TORSVIK, V.; GOKSOYR, J.; DAE, F. L. High diversity in DNA soil bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, v. 56, p. 782-787, 1990.

TORSVIK, V.; ØVREAS, L., Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, 5, p.240-245, 2002.

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.

TRANNIN, ISABEL CRISTINA DE BARROS; SIQUEIRA, JOSÉ OSWALDO; MOREIRA, FÁTIMA MARIA DE SOUZA. Características biológicas do solo indicadoras de qualidade após dois anos de aplicação de biossólido industrial e cultivo de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, p. 1173-1184, 2007.

TRASAR-CEPEDA, C. et al. Towards a biochemical quality index for soils: an expression relating several biological and biochemical properties. **Biology and Fertility of soils**, v. 26, n. 2, p. 100-106, 1997.

TSCHERKO, D. et al. Functional diversity of the soil microflora in primary succession across two glacier forelands in the Central Alps. **European Journal of Soil Science**, v. 54, n. 4, p. 685-696, 2003.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil biology and Biochemistry**, v. 19, n. 6, p. 703-707, 1987.

VARGAS, L. K.; SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de C-CO₂ e N mineral de um podzólico vermelho-escuro submetido a diferentes sistemas de manejo: Microbial biomass and C-CO₂ and mineral nitrogen production in paleudult soil cultivated under different management systems. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 1, p. 35-42, 2000.

VASCONCELOS, M. C. A. D. Avaliação dos indicadores químicos e biológicos de qualidade do solo de cerrado degradado após o cultivo de leguminosas, 2015.

VAZ, M.G.M.V.; SCHAKER, P.D.C.; MACHINESKI, G.S.; SILVA, G.M.; MANDRO, J.L.; CORREA, N.T.; SARTORI, S.B. **Microbiologia agrícola: das bases biológicas à biotecnologia**. In: CARVALHO, M.E.A. et al. Workshop de Ciências da APG/ESALQ: O Despertar Profissional, Piracicaba: ESALQ/USP, 2015. 141 p.

VEZZANI, Fabiane Machado; MIELNICZUK, João. Uma visão sobre qualidade do solo. **Revista brasileira de ciência do solo**. Viçosa. Vol. 33, n. 4, p. 743-755, 2009.

VIEIRA, F. C. S.; NAHAS, E. Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperatures. **Microbiological Research**, v. 160, n. 2, p. 197-202, 2005.

VIEIRA, F.C.B. Estoques e labilidade da matéria orgânica e acidificação de um Argissolo sob plantio direto afetado por sistemas de cultura e adubação nitrogenada. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007. 123p. (Tese de Doutorado)

WAKELIN, S.A.; GREGG, A.L.; SIMPSON, R.J.; LI, G.D.; RILEY, I.T. & McKAY, A.C. Pasture management clearly affects soil microbial community structure and N-cycling bacteria. **Pedobiologia**, 52:237-251, 2009.

WALKER, Travis S. et al. Root exudation and rhizosphere biology. **Plant physiology**, v. 132, n. 1, p. 44-51, 2003.

WARDLE, D. A. **Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo**. HUNGRIA, M.; ARAUJO, RS (Ed.). Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; Goiânia: EMBRAPA-CNPAP; Londrina: EMBRAPA-CNPASO, 1994.

WARDLE, D.A.; GHANI, A. A critique of the microbial metabolic quotient (qCO₂) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. *Soil Biol. Biochem.*, 27:1601- 1610, 1995.

WELLER, R.; BATESON, M.M. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. **Nature**, London, v.345, p.63-65, 1990.

YIN, CHUNTAO et al. Members of soil bacterial communities sensitive to tillage and crop rotation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 12, p. 2111-2118, 2010.

YODER, Robert E. Direct method of aggregate analysis of soils and a study of the physical nature of erosion losses. **Journal of the American Society of Agronomy**, 1936.

YOUSSEF, N.H.; ELSHAHED, M.S. Diversity rankings among bacterial lineages in soil. The **ISME Journal**, v. 3, p.305–313, 2009.

ZHANG, L.; XU, Z. Assessing bacterial diversity in soil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 8, p. 379–388, 2008

ZIBILSKE, L. M. Carbon mineralization. In: WEAVER, R. W.; SCOTT, A.; BOTTOMLEY, P. J. (Ed.). *Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties*. Madison: **Soil Science Society of America**. p. 836- 864, 1994.

ZILLI, J.E.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COUTINHO, H.L.C.; NEVER, M.C.P. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília**, v. 20, n. 3, p. 391-411, 2003.