



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

NATASSIA MAGALHÃES ARMACOLO

**DIVERSIDADE MICROBIANA DA SERAPILHEIRA EM
PASTAGENS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA**

Londrina
2022

NATASSIA MAGALHÃES ARMACOLO

**DIVERSIDADE MICROBIANA DA SERAPILHEIRA EM
PASTAGENS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção de título de Doutora em Agronomia.

Orientadora: Profa Dra. Maria de Fátima
Guimarães
Coorientador: Dr. Renato de Aragão Ribeiro
Rodrigues

Londrina
2022

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

N273d Armacolo, Natassia Magalhaes Armacolo.

Diversidade Microbiana da Serapilheira em Pastagens no Bioma Mata Atlântica Londrina / Natassia Magalhaes Armacolo
Armacolo. - Londrina, 2022. 99
f. : il.

Orientador: Maria de Fátima Guimarães.

Coorientador: Renato de Aragão Ribeiro
Rodrigues.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2022.

Inclui bibliografia.

1. Técnicas moleculares - Tese. 2. PCR qualitativo - Tese. 3. 16S rRNA - Tese. 4. ITS de fungos - Tese. I. Guimarães, Maria de Fátima. II. de Aragão Ribeiro Rodrigues, Renato . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

NATASSIA MAGALHÃES ARMACOLO

**DIVERSIDADE MICROBIANA DA SERAPILHEIRA EM
PASTAGENS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção de título de Doutora em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Dra. Maria de Fátima
Guimarães
Universidade Estadual de Londrina

Coorientador: Dr. Renato de Aragão Ribeiro
Rodrigues
Embrapa Solos

Dr. Edicarlos Damacena
Universidade Federal de Rondonópolis

Dr. Felipe Martini Santos
Associação Rede ILPF

Dr. Marco Antônio Nogueira
Embrapa Soja

Dr. Róberson Machado Pimentel
Universidade Federal Fluminense

Londrina, 20 de junho de 2022.

Dedico esta tese a toda minha família, composta por meus verdadeiros mestres, modelos reais de perseverança, parceria, dedicação, paciência e ética.

AGRADECIMENTOS

Ao meu pequeno Davi que é minha fonte constante de alegria e inspiração.

À minha família, que esteve ao meu lado em todos os momentos da minha vida, sempre me apoiando e incentivando, nunca deixando que eu desistisse dos meus objetivos.

À Universidade Estadual de Londrina - Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade de formação.

A CNPq pela bolsa concedida.

À minha orientadora Dr^a Maria de Fátima Guimarães, pela compreensão, orientação, apoio e, principalmente pela amizade.

Ao Dr. Renato Rodrigues pela orientação, amizade, atenção e apoio durante toda a realização do trabalho, minha sincera admiração.

Ao Dr. Fabiano Balieiro pela orientação, confiança e oportunidade da realização deste trabalho.

Aos pesquisadores Dr. Ademir Fontana e Dr. Caio Rachid, pelo incentivo e por serem exemplos de profissionalismo.

Aos melhores funcionários e amigos da Embrapa Gado de Leite, pelo suporte técnico para realização das coletas e análises.

A todos os amigos que conquistei ao longo desta etapa da vida.

Aos que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

“Nunca, jamais desanimeis, embora venham ventos contrários”

Santa Paulina

ARMACOLO, Natassia Magalhães. **Diversidade microbiana da serapilheira em pastagens no bioma Mata Atlântica**. 2022. 99p. Tese de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

RESUMO

Nas últimas décadas, o manejo inadequado do solo e dos animais são considerados os fatores principais da degradação de pastagens nas diferentes regiões brasileiras. Sendo assim, estratégias para a recuperação dessas pastagens contam com um diagnóstico assertivo para que se possa determinar práticas de manejo conservacionistas mais adequadas a cada situação. A diversidade de microrganismos como indicador de qualidade do solo e eficiência do manejo tem sido amplamente discutida, principalmente nos últimos anos, com o início da adoção de técnicas de biologia molecular, que permitiram a avaliação de microrganismos em amostras ambientais. Diante do exposto, objetivou-se avaliar a dinâmica da degradação da serapilheira em áreas de pastagem não degradada e degradada, no Bioma Mata Atlântica, e verificar o papel da microbiota neste processo. Assim, avaliou-se a importância da diversidade microbiana na decomposição de serapilheira de pastagem. Os resultados indicam que a comunidade fúngica, composta por fungos saprotróficos, dominaram a serapilheira em decomposição nas áreas avaliadas; a comunidade bacteriana dominou as fases de decomposição da serapilheira; os índices de diversidade e riqueza da composição da comunidade bacteriana e fúngica não apresentaram diferenças entre as áreas.

Palavras-chave: Técnicas moleculares. PCR qualitativo. 16S rRNA. ITS de fungos.

ARMACOLO, Natassia Magalhães. **Litter microbial diversity in pastures in the Atlantic Forest biome**. 2022. 99p. Doctoral thesis do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

ABSTRACT

In the last decades, the inadequate handling of the soil and of the animals are considered the main factors of the degradation of pastures in the different Brazilian regions. Thus, strategies for the recovery of these pastures rely on an assertive diagnosis so that the most appropriate conservation management practices can be determined for each situation. The diversity of microorganisms as an indicator of soil quality and management efficiency has been widely discussed, especially in recent years, with the beginning of the adoption of molecular biology techniques, which allowed the evaluation of microorganisms in environmental samples. Given the above, the objective was to evaluate the dynamics of litter degradation in areas of non-degraded and degraded pasture, in the Atlantic Forest Biome, and to verify the role of the microbiota in this process. Thus, the importance of microbial diversity in the decomposition of pasture litter was evaluated. The results indicate that the fungal community, composed of saprotrophic fungi, dominated the decomposing litter in the evaluated areas; the bacterial community dominated the litter decomposition phases; the indices of diversity and richness of the bacterial and fungal community composition did not show differences between the areas.

Keywords: Molecular techniques. qualitative PCR. 16S rRNA. Fungal STIs.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Processo evolutivo da perda de vigor, de produtividade, de capacidade de recuperação natural das pastagens.....20
- Figura 2.** Pastagem degradada no estado do Rio de Janeiro.....22
- Figura 3.** Modelo de decomposição da serapilheira com os principais constituintes químicos e a escala de tempo comumente encontrado em ambientes quentes (tropicais) e frios (ártico).....25
- Figura 4.** Ilustração do gene 16S rRNA mostrando as regiões conservadas (verde) e variáveis (cinza). As regiões conservadas do gene são idênticas para todas as bactérias, enquanto as regiões variáveis contêm sítios específicos únicos para cada bactéria.....37
- Figura 5.** Dados médios de Precipitação (mm) e Temperatura (° C) no período de agosto de 2019 a agosto de 2020.....46
- Figura 6.** Área de pastagem não degradada (ND) pertencente ao CEM localizada no município de Valença-RJ.....47
- Figura 7.** Área de pastagem degradada (D) em uma das propriedades privadas (R1) localizada no município de Valença-RJ.....47
- Figura 8.** Mapa do Estado do Rio de Janeiro, em ampliação o município de Valença e a localização espacial dos tratamentos (ND = Pastagem não degradada, D= Pastagem Degradada) e das repetições (R1 = Repetição 1. R2 = Repetição 2. R3 = Repetição 3).....48
- Figura 9.** Número de cópias do gene ITS em áreas de pastagem degradadas (D) e não degradadas (ND) nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras correspondem ao erro padrão.....53

Figura 10. Diversidade (Shannon) fúngica baseada no sequenciamento massivo do gene que codifica o ITS nas áreas de pastagem degradada (D) e não degradada (ND) nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras correspondem ao erro padrão das amostras.....	54
Figura 11. Índice de Riqueza (Chao) fúngica baseada no sequenciamento massivo do gene que codifica o ITS nas áreas de pastagem degradada (D) e não degradada (ND) nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras correspondem ao erro padrão das amostras.....	55
Figura 12. Ordenação de Escala Multidimensional não-Métrica (nMDS), com índice de dissimilaridade de Bray-Curtis de distribuição de OTUs em áreas de pastagem degradadas (D) representadas pelos tons de vermelho e em áreas não degradadas (ND) pelos tons de azul, nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias).....	56
Figura 13. Abundância relativa média de filamentos de fungos encontradas a partir do sequenciamento do gene que codifica o ITS, nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão dos dados à ANOVA de duas vias, a diferença estatística entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. Os dados representados por “others” e “unclassified” não foram avaliados estatisticamente por agruparem mais de um táxon.....	57
Figura 14. Abundância Relativa média da ordem de fungos encontrada a partir do sequenciamento do gene que codifica o ITS, nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão dos dados à ANOVA de duas vias, a diferença estatística entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. Os dados representados por “others” e “unclassified” não foram avaliados estatisticamente por agrupar mais de um táxon.....	58
Figura 15. Abundância relativa média do gênero de fungos encontradas a partir do sequenciamento do gene que codifica o ITS, nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão	

dos dados a ANOVA de duas vias, a diferença estatística entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. Os dados representados por “others” e “unclassified” não foram avaliados estatisticamente por agrupar mais de um táxon.....59

Figura 16. Número de cópias de transcritos do gene que codifica 16S rRNA em áreas de pastagem degradadas (D) e não degradadas (ND), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras apresentam erro padrão da média.....60

Figura 17. Curva de rarefação das amostras de serapilheira coletadas nas áreas de pastagem degradadas (D) - representadas pelos tons de vermelho - e áreas de pastagem não degradadas (ND) - representadas pelos tons de azul, nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias).....60

Figura 18. Índice de Diversidade (Shannon) bacteriana baseada no sequenciamento massivo do gene que codifica o 16 rRNA nas áreas de pastagem degradada (D) e não degradada (ND), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras representam o erro padrão das amostras.....61

Figura 19. Índice de Riqueza (Sobs) bacteriana baseada no sequenciamento massivo do gene que codifica 16 rRNA das áreas de pastagem degradada (D) e não degradada (ND), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras representam o erro padrão das amostras.....62

Figura 20. Ordenação de Escala Multidimensional de Coordenadas Principais (PCoA) com índice de dissimilaridade de Bray-Curtis de distribuição de OTUs em áreas de pastagem degradadas (D) representadas pelos tons de vermelho e de pastagem não degradadas (ND) representadas pelos tons de azul, nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias).....63

Figura 21. Abundância relativa média de filos de bactérias encontradas a partir do sequenciamento massivo do gene que codifica o 16S rRNA nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão dos dados a ANOVA de duas vias, a diferença estatística

entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. O (d) ao lado do táxon “Bacteria” representa que a classificação desse dado foi a nível de domínio, não tendo sido avaliado por meio de análise estatística. Os dados representados por “others” e “unclassified” não foram avaliados estatisticamente por agrupar mais de um táxon.....64

Figura 22. Abundância relativa média de ordem de bactérias encontradas a partir do sequenciamento massivo do gene que codifica o 16S rRNA, nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão dos dados a ANOVA de duas vias, a diferença estatística entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. Os dados representados por “others” e “unclassified” não foram avaliados estatisticamente por agrupar mais de um táxon.....65

Figura 23. Abundância relativa média do gênero de bactérias encontradas a partir do sequenciamento massivo do gene que codifica o 16S rRNA, nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão dos dados a ANOVA de duas vias, a diferença estatística entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. Os dados representados por “others” e “unclassified” não foram avaliados estatisticamente por agrupar mais de um táxon.....66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação das fases de pastagens segundo os parâmetros limitantes e seu nível de degradação.	22
Tabela 2. Constante de decomposição simples estimada e seus respectivos tempos de meia-vida para algumas forrageiras tropicais.	27
Tabela 3. Manejo do solo e da pastagem, sistema de pastejo, época de formação da pastagem e histórico do uso dos tratamentos avaliados.	49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. HIPÓTESES.....	18
3. OBJETIVOS.....	18
3.1 Objetivo geral.....	18
3.2 Objetivos específicos.....	18
4. REVISÃO DA LITERATURA.....	19
4.1 Áreas de pastagens degradadas no Brasil	19
4.2 Classificação dos níveis de degradação de pastagens.....	21
4.3 Dinâmica da decomposição da serapilheira em áreas de pastagem .	23
4.4 Microrganismos e sua influência no processo de decomposição da serapilheira	28
4.5 Limitações ao desenvolvimento e atuação dos microrganismos.....	34
4.6 Identificando os microrganismos.....	36
ARTIGO: DIVERSIDADE MICROBIANA DA SERAPILHEIRA EM PASTAGENS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA	38
5. INTRODUÇÃO.....	43
6. MATERIAL E MÉTODOS	45
6.1 Descrição, caracterização e <i>design</i> experimental das áreas de estudo	45
6.2 Coleta da forragem, preparação e processamento dos <i>litterbags</i> para avaliação da dinâmica de decomposição da serapilheira.....	49
6.4 Sequenciamento da região ITS de fungos e do gene que codifica o 16S rRNA de bactérias e análises de bioinformática	51
6.5 Análise estatística.....	52
7. RESULTADOS	53
7.1 Perfil estrutural da comunidade de fungos.....	53
7.2 Perfil estrutural da comunidade de bactérias.....	59
8. DISCUSSÃO.....	67
9. CONCLUSÕES.....	78
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
REFERÊNCIAS.....	81

1. INTRODUÇÃO

As pastagens são a principal forma de uso da terra no mundo, ocupando dois terços de toda área agricultável (FAO, 2015), e, o Brasil é o país com uma das maiores áreas. Cerca de 19% do território nacional é ocupado por pastagens, sendo 5,6% naturais e 13,5% plantadas (IBGE, 2017). Estas áreas sustentam o maior rebanho bovino do mundo, que em 2018 era de quase 213 milhões de cabeças de gado (IBGE, 2018).

Segundo Dias-Filho (2016), a partir do século 20, houve um crescimento expressivo da atividade pecuária no Brasil, ocorrendo também uma transição de pastagens nativas para pastagens plantadas. No entanto, não houve diferença no que diz respeito ao manejo, ou seja, ainda prevalece um baixo nível de investimento em insumos e tecnologias.

No Brasil, 48% das áreas sob pastagem apresentam algum estágio de degradação, levando a uma queda significativa da produtividade da atividade pecuária (DIAS-FILHO, 2017). A degradação está intimamente relacionada ao superpastejo, declínio da fertilidade do solo, erosão, redução do sistema radicular e morte do capim que, conseqüentemente, reduz o aporte de resíduos na forma de serapilheira e matéria orgânica ao solo.

Portanto, a degradação da pastagem impulsiona a perda da qualidade dos solos, principalmente em termos produtivos, regulamentação ambiental e as funções relacionadas aos ciclos biogeoquímicos.

A decomposição da serapilheira é uma das principais vias para reciclagem e importante fonte de nutrientes para o crescimento das plantas. Nas pastagens brasileiras a reciclagem influencia diretamente a manutenção da produtividade, devido ao retorno de nutrientes ocorrer principalmente por meio da decomposição, uma vez que há baixa utilização de insumos agrícolas.

Diante desta situação, com pouca oferta e reposição de nutrientes, comumente acontece o declínio da fertilidade do solo e da capacidade de suporte das forrageiras, levando assim a degradação das pastagens e do solo. Com o declínio da qualidade da forrageira e quantidade de pastagem, processos erosivos podem ser observados e somados à degradação das terras. Atualmente, o uso de indicadores microbianos, tais como, diversidade e riqueza, abundância relativa, atividade enzimática, taxa de respiração e

biomassa microbiana, indicadores sensíveis, tem se mostrado promissores no monitoramento das alterações ambientais decorrentes do manejo e uso agrícola do solo. A dinâmica das populações de microrganismos pressupõe a qualidade e eficácia do manejo do solo e da cultura. As distintas práticas agrícolas modernas e/ou errôneas podem causar redução da riqueza e abundância, resultando em alteração da composição e estrutura das comunidades microbianas do solo e, conseqüentemente, os processos ecológicos são afetados.

Os fungos são microrganismos que precisam de baixa umidade (40-60%) para realizar a fermentação de substratos em estado sólido (BASSO et al., 2011), tendo como sua principal função degradar lignina e celulose (ROITMAN et al., 1991; AUER et al., 2014). Possuem elevada capacidade enzimáticas na degradação de polímeros vegetais, fornecendo recursos às bactérias, pelas quais, as mesmas não conseguem obter sozinhas (ROMANI et al., 2006). Por conseguinte, esse grupo de microrganismos são considerados como o mais ativo na decomposição da serapilheira (VAN DER WAL et al., 2013).

Alguns gêneros específicos de bactérias também possuem atividade celulolítica (YANG et al., 2014), pois carregam genes da enzima celulase e, normalmente, estão associados aos filos Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes, e Firmicutes (BARNARD et al., 2013; BERLEMONT; MARTINY, 2013).

No entanto, esse grupo de microrganismos não consegue obter a mesma eficiência quanto à capacidade celulolítica em relação aos fungos (Schneider et al., 2012). Portanto, geralmente, a fase inicial da decomposição está correlacionada com maior biomassa fúngica, enquanto que nas fases finais da decomposição, comumente, há o predomínio de bactérias especializadas em degradação, principalmente de compostos aromáticos derivados da decomposição da lignina por fungos (KIELAK et al., 2016).

Neste contexto, espera-se que os diferentes tipos de manejo do solo ou os métodos de recuperação de áreas degradadas modifiquem qualitativa e quantitativamente a constituição dos microrganismos decompositores. Esta possível modificação pode significar uma disponibilidade de substrato diferente, o que pode favorecer ou inibir o estabelecimento de diferentes grupos

microbianos, uma vez que a permanência de uma população em qualquer ecossistema está condicionada à sua adaptação e ao seu ambiente essencial.

Portanto, o uso de bioindicadores pode auxiliar na compreensão de como os sistemas respondem às perturbações por meio de modificações da dinâmica e diversidade microbiana. Por isso, o objetivo do estudo foi avaliar a dinâmica da degradação da serapilheira em áreas de pastagem não degradada e degradada, no Bioma Mata Atlântica, e qual é o papel da microbiota neste processo.

2. HIPÓTESES

1. A decomposição da serapilheira é fortemente influenciada pela diversidade e riqueza das comunidades fúngica e bacteriana;
2. A abundância relativa de filos, gêneros e espécies da comunidade fúngica e bacteriana é maior na área não degradada;
3. As bactérias proliferam-se na fase rápida de decomposição da serapilheira, independente do estágio de degradação das áreas de pastagem;
4. A comunidade bacteriana influencia a decomposição inicial da serapilheira, independentemente da área de pastagem;
5. A comunidade fúngica é responsável pela decomposição de materiais recalcitrantes, devido a sua capacidade enzimática variada e complexa.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a dinâmica da degradação da serapilheira em áreas de pastagem não degradada e degradada, no Bioma Mata Atlântica, e qual é o papel da microbiota neste processo.

3.2 Objetivos específicos

1. Determinar a composição da comunidade fúngica da serapilheira através do sequenciamento massivo do *Internal Transcribed Spacer* (ITS).

2. Determinar a composição comunidade bacteriana da serapilheira através do sequenciamento massivo do gene que codifica o 16S rRNA.
3. Avaliar quantitativamente e qualitativamente as estruturas da comunidade fúngica e bacteriana relacionados ao processo de decomposição da serapilheira;

4. REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Áreas de pastagens degradadas no Brasil

A maior parte da área terrestre do planeta é utilizada com agricultura e com pastagens, sendo que o cultivo de pastagens ocupa 37% da área agricultável (FAO, 2018). Estima-se que o Brasil possui 180,8 milhões de hectares de pastagens disponíveis para a alimentação dos animais, mas 94,8 milhões de hectares apresentam algum indício de degradação, muitas em estágio severo (LAPIG/UFG, 2018).

O processo de degradação de pastagens é considerado um dos maiores problemas da pecuária brasileira, uma vez que esse setor tem o pasto como base de sustentação animal (PERON; EVANGELISTA, 2004; FERRAZ; FELÍCIO, 2010). Noventa e cinco por cento da carne bovina é produzida em regime de pastagem, considerado a maneira mais econômica por não depender de fatores como altas nos preços de grãos (TORRES JÚNIOR; AGUIAR, 2013) e, prático para produzir e oferecer alimentos para os bovinos (DIAS-FILHO, 2014).

Macedo e Zimmer (1993) definem degradação de pastagens como:

Um processo evolutivo da perda do vigor, de produtividade, da capacidade de recuperação natural das pastagens para sustentar os níveis de produção e a qualidade exigida pelos animais, bem como o de superar os efeitos nocivos de pragas, doenças e invasoras, culminando com a degradação avançada dos recursos naturais em razão de manejos inadequados.

Ademais, em regiões de clima tropical e subtropical a degradação das pastagens ocorre principalmente por manejo inadequado, superpastejo e ausência de adubações periódicas (DIAS-FILHO, 2011). No Brasil, áreas de pastagens apresentam algum estágio de degradação, conforme ilustrado na Figura 1.

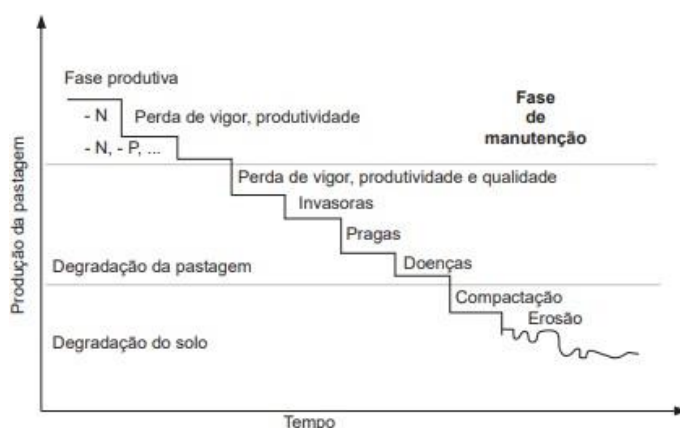


Figura 1. Processo evolutivo da perda de vigor, de produtividade, de capacidade de recuperação natural das pastagens.

Fonte: Adaptado de Oliveira (2013).

O processo de degradação pode ser apresentado em uma sequência lógica, mas na prática não é tão simples e nem sempre acontece na ordem descrita na Figura 1. No campo, as sequências e graus dependem do ecossistema e, principalmente do manejo. Vale ressaltar que, o próprio limite das fases ainda é um ponto importante para se estudar, visto que cada sistema de produção apresenta uma situação de degradação diferente (ZIMMER et al. 2012).

DIAS-FILHO (2011) classificou os efeitos da degradação em dois tipos, agrícola e biológica. A degradação agrícola, é típica de regiões com época seca menos intensa, refere-se à redução da capacidade de suporte devido ao aumento da população de plantas daninhas. Já, a degradação biológica, é mais comum em regiões áridas e semiáridas, e diz respeito à incapacidade do solo de sustentar a biomassa, ou a capacidade de sustentar apenas espécies menos exigentes em termos de fertilidade do solo, tendo como principal característica a ocorrência de solo exposto na área. A degradação está geralmente relacionada a diminuição da disponibilidade de N no solo, causada por acúmulo de serapilheira de baixa qualidade

(CANTARUTTI, 1996). Entretanto, a produção de biomassa e produtividade do rebanho são afetados diretamente pelo nível de degradação das pastagens e, o produtor tem a capacidade técnica de avaliar os estágios de degradação e tomar as medidas corretivas adequadas (DIAS-FILHO, 2011). Além disso, a degradação das pastagens tem relação com questões menos perceptíveis, como mudanças climáticas.

Na última década, o avanço tecnológico, principalmente o lançamento de gramíneas com maior produtividade, e o melhoramento genético do rebanho, tem estimulado uma mudança de atitude no setor de produção de carne e leite no país. Estes fatores correlacionados às pressões ambientais e de mercado, estão fazendo com que os produtores desenvolvam uma pecuária sustentável e eficiente, caracterizada pela busca de maior produtividade (MARTHA JUNIOR et al., 2012), ou seja, produzir mais carne ou leite em áreas menores de pastagens.

Desta forma, faz-se necessário avaliar os níveis de degradação das pastagens, capazes de gerar resultados simples de serem interpretados, com razoável confiabilidade, possibilitando que o produtor seja mais assertivo nas definições de estratégias de recuperação e na utilização de práticas conservacionistas adequadas, garantindo assim, maior produtividade e prevenção dos processos erosivos.

4.2 Classificação dos níveis de degradação de pastagens

Spain e Gualdrón (1991) definem degradação como sendo a diminuição considerável na produtividade potencial para as condições edafoclimáticas e bióticas a que a pastagem está submetida. Contudo, a diversidade das espécies e suas características morfológicas dificultam o estabelecimento de critérios para a avaliação do nível de degradação das pastagens (NASCIMENTO et al., 2006).

As fases de classificação de pastagem, segundo Spain e Gualdrón (1991), estão apresentadas na Tabela 1;

Tabela 1. Classificação das fases de pastagens segundo os parâmetros limitantes e seu nível de degradação.

Estágio de degradação	Parâmetros de referência	Perda de produtividade (%)	Nível de Deterioração
1	Vigor e qualidade	< 25	Leve
2	Estágio anterior + pouca população	25 a 50	Moderado
3	Estágio anterior + plantas daninhas	50 a 75	Forte
4	Estágio anterior + formigas e cupins	> 75	Muito Forte
5	Estágio anterior + solo exposto	> 75	Muito Forte
6	Estágio anterior + erosão	> 75	Muito Forte

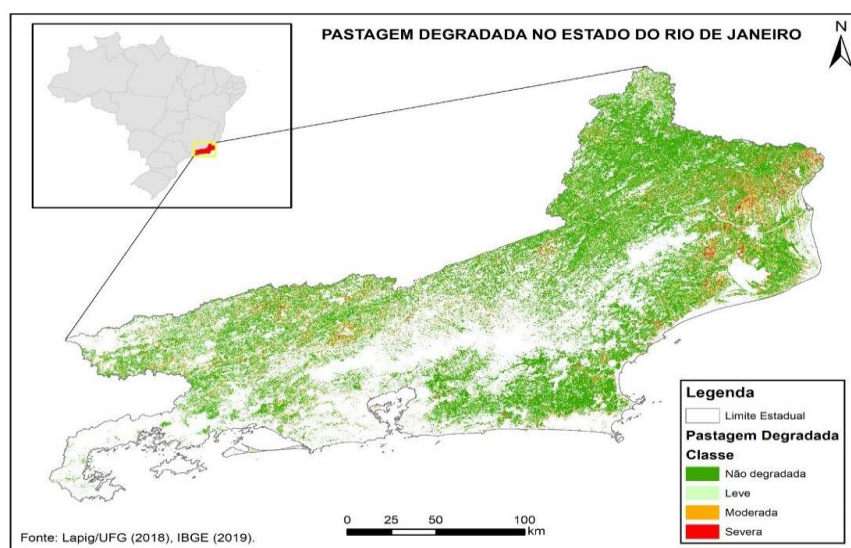
Fonte: Adaptado de Spain e Gualdrón (1991).

O estado do Rio de Janeiro possui 12,1 milhões de hectares de pastagens, sendo que 18% destas áreas apresentam degradação leve e 5,36% degradação severa (LAPIG/UFG, 2018), Figura 2.

Figura 2. Pastagem degradada no estado do Rio de Janeiro.

Fonte: Lapig/UFG (2018).

Contudo, a classificação visual utilizada de maneira isolada é considerada insuficiente para distinguir os níveis de degradação das pastagens (ROCHA JÚNIOR et al., 2014). Sendo, a cobertura vegetal o parâmetro mais indicado para complementar essa avaliação, uma vez que a predominância da forrageira e a presença elevada de solo exposto são os indicadores mais



assertivos para configurar evolução do processo de degradação (LISBÔA et al., 2016).

Uma vez que, a avaliação visual é muito subjetiva, a complementação com amostragens de solo e análises laboratoriais de atributos físico-químicos confere maior confiabilidade ao diagnóstico e eficácia na distinção dos níveis de degradação (LISBÔA et al., 2016).

4.3 Dinâmica da decomposição da serapilheira em áreas de pastagem

A serapilheira da pastagem é definida como o tecido vegetal senescente desconectado da planta e depositado sobre ou abaixo da superfície do solo (DUBEUX JR. et al., 2006), ou seja, é composta por material vegetal como, folhas, caules, frutos, sementes e flores liberados pelas plantas (COSTA et al., 2012), e apresenta distribuição uniforme e disponibilização dos nutrientes mais lenta, quando comparada às excretas dos animais (DUBEUX JR. et al., 2007), com menores perdas (DUBEUX JR. et al., 2013), possibilitando melhor aproveitamento dos nutrientes por área e melhor distribuição temporal.

Geralmente, a fração folha é a mais abundante na serapilheira (BIANCHIN et al., 2016). De acordo com Waksman (1952), de forma geral, os tecidos vegetais, são compostos por celulose (15-60%), hemicelulose (10-30%), lignina (5-30%), fração solúvel em água (5-30%), fração solúvel em éter (1-15%), proteínas (1-10%). A celulose é uma estrutura bem estável formada por cadeias lineares de D-glicose com ligações β -(1 \rightarrow 4), formando uma fita totalmente ordenada, impedindo, relativamente, a atividade de enzimas, dificultando a degradação.

A hemicelulose é formada por uma cadeia rica em ramificações de xilose e arabinose, inclusive contendo glicose, manose, e galactose, que por sua vez, apresentam maior facilidade de hidrólise (TAIZ; ZEIGER, 2004). A lignina possui característica de resistência à degradação, se comportando como escudo, ela envolve a celulose, a hemicelulose e as proteínas da parede celular (BERG; MCCLAUGHERTY, 2008). Há maior velocidade de decomposição na serapilheira que possui em sua estrutura alto conteúdo solúvel, do que na decomposição da serapilheira que possui alto teor de lignina (LASHERMES et al., 2016). Quando a decomposição atinge o estágio mais avançado observa-se maior concentração de lignina (BERG, 2000) e menor concentração de celulose (HEAL et al. 1997).

A composição da vegetação de um determinado sistema influencia a produção, qualidade e composição da serapilheira, uma vez que cada espécie que constitui o sistema possui fatores fisiológicos internos característicos, como: estrutura e disposição das folhas; conteúdo de clorofila; acúmulo e distribuição de carboidratos, entre outros (YADAV et al., 2008; PIMENTA et al., 2011). Esses fatores resultam em diferentes modelos de produção de serapilheira, ou seja, as quantidades de serapilheira depositadas nos sistemas são diferentes, bem como as proporções das frações que a constituirão.

A decomposição da serapilheira é uma das principais vias para reciclagem e, importante fonte de nutrientes orgânicos e inorgânicos para o crescimento das plantas no ecossistema de pastagens (WANG et al., 2008; CRESPO, 2015). A biodisponibilidade e velocidade de reciclagem de determinado elemento varia em função da qualidade do material vegetal da serapilheira depositada no solo (ALVES et al., 2006). Sendo assim, a reciclagem de nutrientes da serapilheira no ecossistema de pastagem influencia diretamente na manutenção da produtividade da mesma, visto que as áreas de pastagens brasileiras apresentam baixo nível de utilização de insumos e, o retorno de nutrientes ocorre principalmente através da decomposição da serapilheira (DUBEUX JR. et al., 2006).

Portanto, a principal transferência de nutrientes da planta para o solo é através da deposição e decomposição da serapilheira, sendo que a decomposição é um processo essencial do ecossistema, que determina o ciclo de nutrientes e carbono, a manutenção dos serviços ambientais, mantendo a estabilidade das comunidades vegetais e animais (WANG et al., 2008; CRESPO, 2015; MOURA et al., 2017).

O processo de decomposição é dividido em três fases (Figura 3). Com decaimento inicial rápido na primeira fase, devido à perda de componentes solúveis em água e de fácil degradação, seguida da segunda fase, de decomposição mais lenta, com a influência das atividades dos organismos do solo, que agem como fragmentadores ou decompositores do material e, por fim, na terceira fase há a perda do material mais recalcitrante, como a lignina (MELILLO et al, 1989; CHAPIN III et al., 2002).

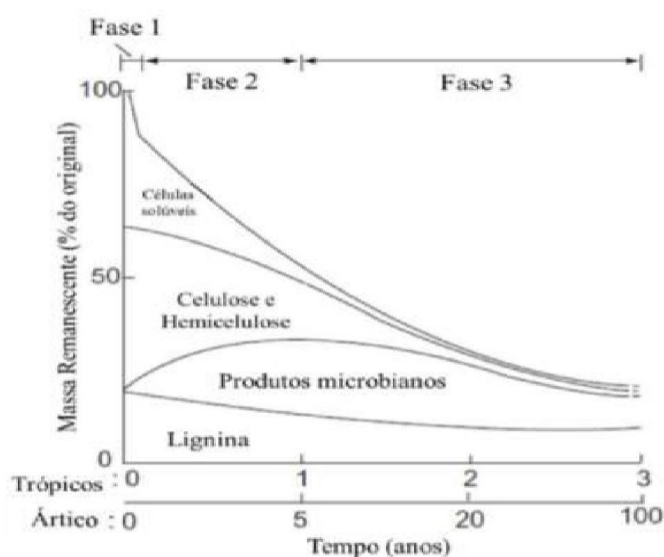


Figura 3. Modelo de decomposição da serapilheira com os principais constituintes químicos e a escala de tempo comumente encontrado em ambientes quentes (tropicais) e frios (ártico).

Fonte: Adaptado de Chapin III et al., (2002).

Entretanto, resíduos vegetais de baixa qualidade e palatabilidade, como compostos de cadeias carbônicas longas, são de difícil degradação e se tornam pouco atrativos aos microrganismos, conseqüentemente, tendem a ter baixa taxa de decomposição (PARSONS et al., 2014). A lignina é um composto de cadeia carbônica longa, conhecida por ter baixa degradabilidade, comparada a outros componentes das folhas (MELILLO et al., 1982), tendendo a se acumular nos resíduos. Por outro lado, a celulose e hemicelulose, que também possuem cadeia longa, são decompostas em uma taxa considerada rápida, pois são hidrossolúveis (YANG et al., 2000).

Neste contexto, o conhecimento do processo de ciclagem é de suma importância, não só para compreender o funcionamento dos ecossistemas, mas também na busca por informações para a implementação de práticas de manejo para a recuperação de áreas degradadas e manutenção da produtividade (SOUZA; DAVIDE, 2001).

Diversos estudos revelaram que a decomposição de serapilheira é influenciada por diferentes fatores, como precipitação, temperatura, vento, conteúdo de água disponível no solo, umidade do ar, tipo de vegetação, latitude, altitude, relevo, as características do solo, entre outras (PINTO et al., 2008, LIMA et al., 2015). Além disso, a serapilheira reduz a incidência da radiação solar direta sobre o solo e, conseqüentemente, favorece

a retenção de umidade (JARAMILLO-BOTERO et al., 2008).

A decomposição de serapilheira em áreas de pastagem, na estação de crescimento (na estação chuvosa), exerce influência contínua no fornecimento de nutrientes para as plantas, enquanto a dinâmica de decomposição em sistemas de cultivo anual ocorre principalmente em períodos específicos (EILITTA et al., 2003). Ademais, a mudança no uso da terra é o fator de mudança global mais imediato e difundido, com consequências potencialmente significativas para a decomposição (BAKKER et al., 2011). Entretanto, torna-se difícil determinar qual fator pode prevalecer sobre os demais e, principalmente, relacioná-los com a produção de serapilheira.

A alta taxa de decomposição da serapilheira indica que ela promove a liberação rápida e, portanto, o reaproveitamento de nutrientes pelo sistema radicular da vegetação no sistema (BIJAYALAXMI; YADAVA, 2010). No sistema solo-planta, os nutrientes estão em um estado de fluxo contínuo e dinâmico no qual as plantas retiram os nutrientes do solo, e os utilizam em seus processos metabólicos, devolvendo-os naturalmente ao solo como serapilheira.

O estudo da taxa de decomposição é realizado para compreender a dinâmica e funcionamento dos ecossistemas, pois é considerado o elemento mais condicionante para manter a fertilidade do solo, por sua importância no processo de transferência de nutrientes da fitomassa para o solo.

No mundo inteiro, as taxas de decomposição nos biomas são estabelecidas principalmente pelas características individuais das folhas, porém, para as espécies de forragens tropicais, os estudos de taxa de decomposição ainda são escassos. Arato et al. (2003) observaram que as maiores taxas de decomposição favoreceram a liberação mais rápida dos nutrientes e melhor reaproveitamento dos nutrientes por parte da vegetação do sistema.

Estima-se que em áreas cultivadas com pastagens, semeado com o capim-baia (*Paspalum notatum* Flüggé) e em sistema de manejo animal extensivo, cerca de 60, 89 e 87% do total de C, N e P, respectivamente, foram contabilizados pela matéria orgânica do solo e o restante dos *pools* destes nutrientes foram medidos na vegetação acima e abaixo do solo, serapilheira acima do solo e excrementos de animais (DUBEUX et al., 2006). Porém, a matéria orgânica do solo não pode ser a principal fornecedora desses nutrientes

para o crescimento das plantas devido à sua baixa taxa de mineralização, variando de 20-50 g kg⁻¹ ano⁻¹ (DUBEUX et al., 2007).

A serapilheira de gramíneas C₄, geralmente, é de baixa qualidade, resultando na imobilização do N (FISHER et al., 1997), o que acarreta a escassez deste nutriente em sistemas de baixo consumo (REZENDE et al., 1999). Esse fenômeno ocorre devido à sua baixa qualidade em pastagens de clima quente, a qual atua como um sumidouro do nitrogênio disponível no solo (THOMAS; ASAKAWA, 1993).

Vale destacar que o ciclo do C também afeta a disponibilidade de N, P e S, nutrientes associados a compostos orgânicos e atividade microbiana, via mineralização e/ou imobilização (CANTARUTTI, 1996). Fisher et al. (1997) avaliando a ciclagem de nutrientes em pastagens tropicais observaram que a maioria desses processos estão relacionados a concentração de C e com a qualidade do material orgânico, como as relações C:N, C:P, C:S, P:S, lignina:N e lignina: polifenóis.

Sob outro enfoque, em estudos de ciclagem de nutrientes em diferentes ecossistemas, um dos métodos usados para estimar a decomposição da serapilheira é a determinação do valor K, feita por medidas de perda de massa a partir do material remanescente em cada período de coleta, a partir do tempo zero de incubação (SCORIZA et al., 2012).

Acredita-se que a ciclagem de nutrientes em áreas de pastagens está relacionada ao tempo de meia-vida da serapilheira, ou seja, a redução na meia-vida da serapilheira proporciona troca mais rápida de nutrientes e aumento no suprimento de nutrientes (DUBEUX Jr. et al., 2007), sendo que a média de meia-vida para gramíneas C₄ é de 174 dias, após a incubação da serapilheira.

Com base nessas considerações, Rezende et al. (1999), apresentaram diversos estudos relatando o tempo necessário para a decomposição da metade da biomassa da serapilheira de gramíneas e leguminosas tropicais (Tabela 2).

Tabela 2. Constante de decomposição simples estimada e seus respectivos tempos de meia-vida para algumas forrageiras tropicais.

Espécie/Cultivar	k g ⁻¹ g ⁻¹ d ⁻¹ d*	Meia-vida (d)**	Referência
Gramínea			

<i>Brachiaria decumbens</i>	0.0031	223	Thomas; Asakawa (1993)
<i>Brachiaria humidicola</i>	0.0044–0.0082	84–159	Rezende et al. (1999)
<i>Panicum maximum</i> 'Tanzânia'	0.0092	75	Schunke (1998)
<i>Andropogon gayanus</i>	0.0025	277	Thomas; Asakawa (1993)
Leguminosa			
<i>Arachis pintoii</i>	0.0042	50	Thomas; Asakawa (1993)
<i>Desmodium ovalifolium</i>	0.0241	29	Ferreira et al. (1997)
<i>Pueraria phaseoloides</i>	0.0020	111	Thomas; Asakawa (1993)
<i>Stylosanthes guianensis</i>	0.0022	79	Thomas; Asakawa (1993)

* Constante de decomposição do modelo exponencial único. Todas as estimativas foram feitas durante o verão, estação das chuvas.

** Quantidade de tempo necessário para decomposição da metade da biomassa da serapilheira [$T_{1/2} = (\ln 2)/k = 0.6932/k$].

Fonte: Adaptado de Rezende (1999)

Robbins (1989) trabalhando com pastagens de *Panicum* na Austrália, concluiu que a mineralização líquida do N não ocorreu no período de 100 dias de incubação da serapilheira e, que após 365 dias de incubação, apenas 20 a 30% de todo N da serapilheira tinha sido liberado no solo. Sendo que, o plantio de um *mix* de gramíneas e leguminosas em regiões tropicais tende a aumentar a fertilidade do solo e proporcionar a sustentabilidade da pastagem por meio da decomposição da serapilheira de melhor qualidade (CANTARUTTI et al., 2002).

Por fim, as pastagens degradadas, sistemas em que a entrada de N é baixa, a serapilheira pode desempenhar papel positivo, em virtude de atuar como um reservatório, imobilizando o N e liberando-o posteriormente, reduzindo as perdas de nutrientes para o meio ambiente (WEDIN; TILMAN, 1996). Nota-se que é necessário desenvolver estratégias de gestão adequada para compreender a capacidade e a dinâmica da serapilheira na ciclagem de nutrientes e, assim, determinar o futuro dos agroecossistemas de pastagens em climas quentes.

4.4 Microrganismos e sua influência no processo de decomposição da serapilheira

A microbiota do solo é um componente importante da biodiversidade terrestre, envolvida em importantes processos biogeoquímicos (CROWTHER et al., 2014). As bactérias e os fungos são responsáveis por 90

a 95% do total do metabolismo heterotrófico na maioria dos solos, tornando esses microrganismos chave na decomposição da matéria orgânica e na mineralização de nutrientes. Possuindo diferentes funções na degradação da matéria orgânica no solo, esses microrganismos são elementos básicos e importantes para o fornecimento de nutrientes às plantas, através da interação mutualística e simbiótica (DJUKIC et al., 2010).

Esses microrganismos decompositores podem ser classificados em três grupos diferentes: o primeiro grupo denominado oportunistas, com alta velocidade de crescimento e especializado em degradar moléculas solúveis, o segundo grupo, denominado especialistas, de crescimento lento, e especializado em degradar celulose e lignocelulose e, o terceiro grupo, denominado mineiros, também de crescimento lento, especializado em degradar lignina (BALDEZ, 2018).

Em vista dessa especificidade de cada grupo, pode-se inferir que fungos e bactérias têm ação em diferentes substratos na decomposição da matéria orgânica (Mora-Gómez et al., 2016), associado a presença de enzimas específicas para a degradação (LEJON et al., 2005), formando um outro tipo de abordagem na divisão. Nesse caso, em quatro grupos distintos: celulolíticos, hemicelulolíticos, pectinolíticos, e ligninolíticos (TAUK, 2018). Salientando que, o fator determinante para a velocidade da decomposição é a intensidade das atividades de cada enzima secretada (WICKINGS et al., 2012).

A degradação de um substrato complexo, folhas, tecidos microbianos mortos ou exoesqueletos de insetos, é processada mais rapidamente na presença de uma comunidade microbiana do que na presença de uma única população (BERG, 2000). A qualidade da serapilheira influencia a decomposição de forma que o material vegetal de alta qualidade é mais atrativo aos microrganismos do solo e são degradados mais rapidamente, ou seja, altas concentrações de N e fósforo (P) influenciam positivamente a decomposição, pois esses nutrientes são essenciais e limitantes para o metabolismo dos microrganismos (LISANWORK; MICHELSEN 1994).

Como destaca Parron (2004), nos ecossistemas tropicais encontra-se grande biodiversidade, e o entendimento do fluxo de nutrientes e energia que ocorrem no solo, serapilheira e raízes podem proporcionar uma maior compreensão sobre a mineralização dos nutrientes e a relação das

comunidades com o ambiente, sendo a serapilheira a grande representante da transferência de nutrientes das plantas ao solo em ecossistemas.

Outro fator que pode alterar a dinâmica de decomposição é o manejo do solo e da cultura, pois influenciam diretamente a microbiota (BRESOLIN et al., 2010) por meio de alterações no microclima causadas pelo aumento da incidência direta dos raios solares, o que afeta a atividade dos microrganismos do solo e, consecutivamente, a decomposição (LORENZO et al., 2014). Assim, práticas agrícolas que usam diferentes espécies de plantas em rotação promovem diferentes tipos de resíduos vegetais, fomentando uma população diversa de microrganismos do solo.

A avaliação da eficácia das práticas de manejo para recuperação de áreas degradadas é intensamente influenciada pelos parâmetros microbiológicos e bioquímicos do solo (ANDRADE; SILVEIRA et al., 2004). Os microrganismos respondem rapidamente as mudanças do uso da terra ou do ambiente, assim, o monitoramento das mudanças microbiológicas e sua correlação com as práticas de manejo das culturas tem grande potencial para estabelecer indicadores de qualidade do solo (NIELSEN; WINDING, 2002).

O conhecimento dos efeitos das culturas agrícolas na dinâmica das populações microbianas dos solos é sempre importante, devido as transformações que esses microrganismos promovem, influenciando na qualidade dos produtos e na produtividade agrícola (PEREIRA et al., 2007). Os microrganismos estão diretamente envolvidos na ciclagem de nutrientes e, junto com a quantificação do total de bactérias e fungos, a avaliação de grupos microbianos proporciona a compreensão de como ocorrem os processos bioquímicos (ANDRADE; SILVEIRA et al., 2004).

Além disso, os microrganismos podem mostrar até que ponto a natureza da comunidade vegetal pode afetar a formação e a dinâmica da microbiota do solo e da decomposição da serapilheira (PRESCOTT; GRAYSTON, 2013). De maneira geral, o padrão de resposta, quanto ao metabolismo microbiano no ecossistema, é que a diversidade e a riqueza em uma área sem vegetação, inicialmente, sejam baixas. À medida que a vegetação se estabelece, esses parâmetros microbianos aumentam rapidamente (TORSVIK; OVREAS, 2002). A redução da diversidade de

espécies implica em prejuízos para a adaptabilidade futura (ALTIERI, 2002).

A diversidade, riqueza e abundância de microrganismos como indicadores da qualidade do solo tem sido bastante discutido, especialmente nas últimas décadas, com o início da adoção de técnicas de biologia molecular, as quais possibilitaram a avaliação dos microrganismos em amostras ambientais (COUTINHO et al., 1999; ROSADO, 2000). Contudo, existe o consenso de que a diversidade microbiana está diretamente relacionada à estabilidade do ecossistema (KENNEDY, 1999).

Os fungos são organismos eucarióticos, aclorofilados, heterótrofos que obtêm alimento absorvendo substâncias orgânicas dissolvidas em sua superfície celular. Em geral, possuem hifas como estrutura vegetativa filamentosa básica, que juntas dão origem ao micélio. Suas ramificações formam uma grande “rede” de diversas interações com outros organismos da micro e mesofauna. Muitos fungos também são unicelulares, como as leveduras, e possuem menor capacidade de penetração, colonizando superfícies de partículas (RAGHUKUMAR, 2017).

A existência de fungos capazes de degradar compostos xenobióticos é de grande interesse para a biorremediação, sendo os fungos de decomposição branca (degradadores de lignina) um dos grupos que de maior notoriedade em estudos relacionados a biodegradação de poluentes, pois são capazes de transformar e mineralizar contaminantes ambientais, tais como, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, corantes, herbicidas e outros compostos tóxicos através da ação de suas enzimas extracelulares (CHANDRA; RUSTGI, 1998).

Este Reino vive em estreito contato com os vegetais, existindo evidências dessa associação desde o período Carbonífero, quando as plantas conquistaram a terra com a ajuda de fungos na forma de micorrizas. Esta relação é bastante complexa, podendo ser positiva (micorrizas, fungos endofíticos, saprofitismo) ou negativa, com espécies causadoras de doenças representando sérios problemas ao desenvolvimento, produção e frutificação de vegetais, fitopatógenos perigosos em situações de monocultura e de desequilíbrio ecológico (BONONI et al., 2007).

Os sapróbios (Saprófitos) são espécies degradadoras de

matéria orgânica e muito importantes para o processo de reciclagem dos nutrientes (ciclos biogeoquímicos), pois absorvem os nutrientes da matéria orgânica morta, utilizando-os para seu crescimento e reprodução, também liberando minerais para o ambiente e desempenhando papel essencial para evitar o acúmulo de restos orgânicos no meio (CARLILE; WATKINSON, 1994).

A reprodução destes organismos acontece mediante a dispersão de esporos ou células, produzidos sexuada ou assexuadamente. Muitos fungos perderam a capacidade de se reproduzir sexuadamente e produzem apenas esporos assexuados. Participam da decomposição da matéria orgânica, como os sapróbios, essenciais para a ciclagem de nutrientes (HAWKER, 2016; RAGHUKUMAR, 2017).

Representam um agrupamento polifilético (espécies apresentam dois ou mais ancestrais diferentes) (MAZZAROLO, 2005), sendo organismos extremamente diversos. Essa diversidade é vista em sua ecologia, evolução, morfologia, fisiologia e filogenia. Micologistas taxonomistas descreveram apenas cerca de 135.000 a 150.000 espécies, que se estima ser no máximo 10% do número total de fungos no mundo (RAJA et al., 2021).

Os fungos estão classificados atualmente em 19 filos (WIJAYAWARDENE et al., 2020), sendo eles: Aphelidiomycota, Ascomycota, Basidiobolomycota, Basidiomycota, Blastocladiomycota, Calcarisporiellomycota, Caulochytriomycota, Chytridiomycota, Entomophthoromycota, Entorrhizomycota, Glomeromycota, Kickxellomycota, Monoblepharomycota, Mortierellomycota, Mucoromycota, Neocallimastigomycota, Olpidiomycota, Rozellomycota e Zoopagomycota.

Dentre os grupos conhecidos de fungos verdadeiros, pode-se citar os zigomicetos, pertencentes ao filo Zygomycota, considerados descendentes dos Chytridiomycota (fungos geralmente de ambientes aquáticos ou de solo úmido). Caracterizam-se por apresentarem a parede celular constituída por quitina e quitosano, além de apresentarem micélio com septos apenas na delimitação dos órgãos de reprodução ou quando a colônia envelhece. Foram descritas em torno de 200 espécies deste grupo, distribuídas em quatro ordens: Mucorales, Entomophthorales, Zoopagales e Glomales (MATHEUS; OKINO, 1998).

Outro filo conhecido é dos basidiomicetos, que incluem os

fungos que produzem esporos (basidiósporos) de origem sexuada em uma estrutura especializada denominada basídio, popularmente chamados de cogumelo ou orelhas-de-pau, além de outras espécies, como os fungos gelatinosos, os “gasteromicetos”, as ferrugens e carvões e algumas formas leveduróides (BONONI; GRANDI, 1998). A classe Basidiomycetes é constituída por nove ordens, Tremellales, Auriculariales, Septobasidiales, Exobasidiales, Brachybasidiales, Dacrymycetales, Tulasnellales, Aplyllophorales e Agaricales. São fungos de micélio septado, que se reproduzem por esporos exógenos (basidiosporos) formados sobre uma hifa especial denominada basidia.

O micélio dos basidiomicetos é tipicamente septado e apresenta uma estrutura típica, denominada grampo de conexão (BRUNS et al., 1991). São caracterizados por possuírem dois tipos básicos de basidiósporos, liberados violentamente dos basídios, seja nas lamelas das Agaricales ou nos poros das Aplyllophorales. Também existem os denominados estatimosporos, liberados passivamente (BONONI; GRANDI, 1998). Os mesmos autores colocam que a hierarquia taxonômica do grupo vem sofrendo muitas modificações nos últimos tempos. Os basidiomicetos são os principais responsáveis pela decomposição da madeira, composta por celulose e lignina, que dão resistência às paredes das células vegetais (UNTERSEHER; TAL, 2006).

A função decompositora das bactérias é definida quanto as atividades celulolíticas, amilolíticas, pectinolíticas, porém, indefinida quanto a capacidade de despolimerizar as ligninas, ainda que, muitas sejam degradadoras de grupos cíclicos e transformadoras de compostos aromáticos (GRANT; LONG, 1989; SIQUEIRA et al., 1994). Estágios iniciais da decomposição da serapilheira são caracterizados pela ocorrência de poucos tipos de organismos uniformes em seu comportamento e em sua resposta ao ambiente.

À medida que a decomposição prossegue, a população microbiana se torna mais heterogênea, particularmente entre as bactérias., representadas por poucas espécies no começo, mas por uma maior diversidade nos estágios de decomposição mais avançados (GYLLENBERG; EKLUN, 1974). Apesar dos fungos serem mais eficientes em degradar celulose, as bactérias são responsáveis pela solubilização do fósforo, aumentando a disponibilidade desse nutriente em solos de baixa fertilidade e de alta acidez

(SHARMA et al., 2013).

Além disso, bactérias gram-negativas são especializadas na decomposição e assimilação de substratos instáveis (vanilina e glicina) e, são chamadas de estrategistas-r (copiotróficos) (SHARMA et al., 2013). Já, as gram-positivas mineralizam substratos mais complexos (hemicelulose) (WHITAKER et al., 2014), sendo esse último grupo de microrganismos, juntamente com os fungos, denominados de estrategistas-k (oligotróficos), devido à grande associação com a decomposição da matéria orgânica, mineralizando, de forma lenta e eficiente, as fontes de carbono recalcitrantes (KORANDA et al., 2014).

4.5 Limitações ao desenvolvimento e atuação dos microrganismos

A disponibilidade de nutrientes no solo é influenciada pela temperatura, precipitação, altitude e tipo de vegetação que compõe a serapilheira (PAJARES; BRENDAN, 2016). Essa influência das condições climáticas na liberação dos nutrientes da serapilheira pode ser dada, indiretamente, através da microbiota decompositora, pois esta também sofre influência desses fatores (BERLEMONT et al., 2014). Sendo assim, são necessários estudos mais aprofundados dessas correlações entre condições climáticas, microrganismos e liberação de nutrientes para melhor compreensão em prol da elaboração de estratégias de preservação (SINGH et al., 2010). A temperatura é um fator que pode ter influência na microbiota, de modo que, quando é baixa há o aumento da eficiência no uso de carbono pela microbiota do solo (FREY et al., 2013). Já, em temperaturas altas, causam menor eficiência (WHITAKER et al., 2014).

Além da temperatura, a umidade pode afetar muitos ecossistemas (FENN et al., 2010). Assim como a mineralização da matéria orgânica, todos os processos biogeoquímicos do solo são influenciados pela umidade (RODRIGUEZ-ITURBE; PORPORATO, 2005) e, assim também é observado para os microrganismos, que respondem à mudanças na disponibilidade de água (BOUSKILL et al., 2013).

Tal comportamento da relação da umidade com a microbiota, é explicado pelo fato de que, em condições de estresse, há aumento na produção de enzimas oxidativas pelos microrganismos, provocando maior

degradação de polímeros vegetais, tais como, celulose e lignina (BOUSKILL et al., 2016) e, se o solo apresentar umidade abaixo da ideal pode haver a restrição dessas enzimas (MANZONI; KATUL, 2014).

Além disso, a diminuição da umidade pode promover maior oxigenação no solo, desencadeando a precipitação dos metais ferrosos solúveis para metais ferrosos complexos e, juntamente, ocasionando a co-precipitação da matéria orgânica e do fósforo (KLEBER et al., 2015). Contudo, existem grupos de microrganismos que conseguem sobreviver em condição de estresse osmótico, como é o caso das bactérias, devido a sua capacidade de produzir biofilmes quando expostas a condições desfavoráveis de umidade, promovendo uma proteção contra ações redox e dessecação pelo estresse osmótico (O'TOOLE; Stewart, 2005).

Porém, há casos, como por exemplo, o estudo de Allison et al. (2013), em que é observada uma queda significativa da biomassa bacteriana quando submetida a um ambiente seco. Não só as bactérias, mas também os fungos conseguem sobreviver e, até mesmo, aumentar sua população sob condições de umidade desfavoráveis (BOUSKILL et al., 2013), uma vez que esses microrganismos possuem a capacidade de produzir antibióticos quando submetidos a estresse osmótico (BISHOP et al., 2004).

Não somente a temperatura e a água, mas também o pH, influencia na microbiota, de maneira que quando este encontra-se ácido, observa-se a predominância de bactérias, principalmente, as Acidobactérias e as Proteobactérias (HIRAISHI et al., 1995). O estudo realizado por Rousk et al. (2010), analisando a influência do pH na microbiota do solo apontou mudanças significativas apenas em grupos de bactérias, não observaram influência significativa no grupo de fungos.

A composição química do material vegetal decomposto também pode interferir na variação dos microrganismos (BERLEMONT et al., 2014). A partir de modificações estruturais químicas os compostos orgânicos alteram a composição da comunidade microbiana no decorrer da decomposição, dando origem a uma sucessão de microrganismos decompositores, portanto, o tipo de floresta, pode influenciar na microbiota (NIE et al., 2012).

Em concordância, Berg e Smalla (2009), inferiram que os níveis

filogenéticos do vegetal podem afetar a estrutura da microbiota do solo, como, por exemplo, a secreção de aminoácidos, flavonóides e açúcares por espécies arbóreas da família Fabaceae, modulando a estruturação da comunidade microbiana (SZOBOSZLAY et al., 2016). Outro exemplo de modulação da microbiota é o fato do crescimento de fungos ser dependente da presença de lignina, tornando esse grupo de microrganismos bastante sensível às mudanças na vegetação (LAUBER et al., 2008).

Em resumo, as propriedades tanto da planta quanto do solo (Yang et al., 2017) juntamente, com temperatura e disponibilidade de água, influenciam na diversidade da microbiota do solo.

4.6 Identificando os microrganismos

Dentre diferentes técnicas moleculares destacam-se as baseadas na caracterização de ácidos nucléicos extraídos das amostras ambientais, visto que essas oferecem grande potencial para investigar o perfil da comunidade de bactérias e fungos, uma vez que a maioria das espécies destes reinos não podem ser cultivadas.

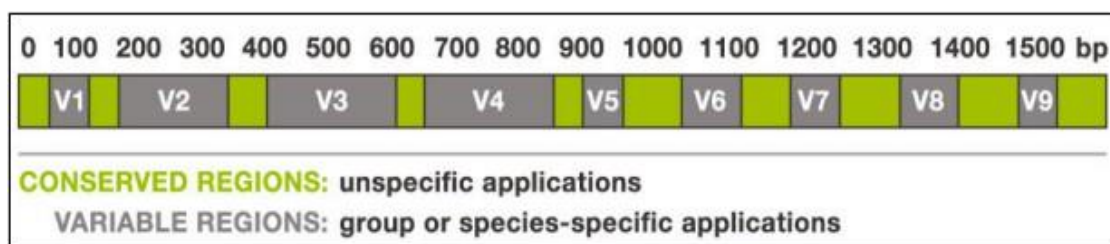
Essas técnicas permitem a identificação de fatores empregados no manejo de solo que interferem nas múltiplas funções e habitats da comunidade microbiana (PETERSEN et al., 2013), bem como a caracterização detalhada da estrutura e sucessão microbiana, incluindo os microrganismos não cultivados ou isolados em condições de laboratório (RINKE et al., 2013; HUGENHOLTZ et al., 1998) e as espécies predominantes, que podem ser utilizadas como indicadoras de funcionalidade e qualidade do solo (O'DONNELL; GORES, 1999).

Nas últimas décadas, DGGE (Denaturing gradient eletroforese em gel) (MUYZER et al., 1993), T-RFLP (Restrição de terminal polimorfismo de comprimento de fragmento) (LIU et al., 1997), FISH (fluorescente hibridização in situ) (WAGNER et al., 1998)] e Genechips (HE et al., 2012) foram usados como métodos convencionais em estudos de comunidades microbianas e diversidade até o desenvolvimento de alta produtividade tecnológica de sequenciamento.

Os métodos metagenômicos fornecidos pela tecnologia de

sequenciamento de última geração são: Roche 454 (CLAESSON et al., 2010; TAMAKI et al., 2011) e Illumina (BENNETT, 2004). Este método de identificação molecular (Illumina) consiste na utilização de um pequeno segmento de DNA suficientemente variável ao nível de organização interespecífico, mas pouco variável ao nível intraespecífico, possibilitando, desta forma, a discriminação acurada de espécies biológicas. Além disso, a abordagem teórico-metodológica e prática desse método de codificação de DNA pode ser considerada como a base de um sistema taxonômico integrado, capaz de implementar todos os aspectos da taxonomia em direção à representação dos organismos da biosfera como um todo (HAJIBABAEI, 2009).

Ainda neste contexto, regiões altamente conservadas para o desenho de primers e regiões hipervariáveis para identificar características filogenéticas de microrganismos, a sequência do gene 16S rRNA (Figura 4) tornou-se o gene marcador mais utilizado para perfilar comunidades bacterianas a região ITS em fungos (PORRAS-ALFARO et al. 2014) e, embora o gene 5.8S



seja altamente conservado, o ITS1 e o ITS2 conjuntamente, em geral, apresentam resolução suficiente para diferenciação (NILSSON et al. 2008).

Figura 4. Ilustração do gene 16S rRNA mostrando as regiões conservadas (verde) e variáveis (cinza). As regiões conservadas do gene são idênticas para todas as bactérias, enquanto as regiões variáveis contêm sítios específicos únicos para cada bactéria.

Fonte: www.alimetrics.net

Por fim, ainda existe grande carência de trabalhos, com o uso de tecnologias modernas para sequenciar DNA da comunidade microbiana em áreas de pastagens tropicais. De acordo com a American Society for Microbiology (RILEY; BUCKLEY, 2009), há um longo caminho a percorrer na genômica ambiental. Os esforços científicos nesta área devem concentrar-se no cruzamento de dados ambientais, bioquímicos e fisiológicos com dados obtidos por sequenciamento massivo, com o objetivo de preencher as lacunas existentes.

ARTIGO: DIVERSIDADE MICROBIANA DA SERAPILHEIRA EM PASTAGENS NO BIOMA MATA ATLÂNTICA

RESUMO

Os fungos e as bactérias são os motores da decomposição da serapilheira, um processo fundamental que regula os ciclos biogeoquímicos. Apesar de diversos estudos relatarem que as mudanças abióticas e a qualidade do substrato afetem a taxa de decomposição, o impacto da composição da comunidade microbiana para essa dinâmica permanece indefinida. Para melhor compreensão dos processos bióticos envolvidos, avaliou-se a dinâmica da decomposição da serapilheira em áreas de pastagem não degradada e degradada, no Bioma Mata Atlântica, e qual é o papel da microbiota neste processo. Para isso, três propriedades privadas com áreas de pastagem degradada e três propriedades com pastagem não degradada do Campo Experimental Santa Mônica, pertencente à Embrapa Gado de Leite, foram monitoradas durante o período de agosto de 2019 a agosto de 2020. Todas as propriedades se situam no município de Valença-RJ, em relevo fortemente ondulado a montanhoso e, a classe de solo predominante é o Cambissolo. Para o estudo da decomposição de serapilheira utilizou-se o método do *litterbag*. No total, 24 *litterbags* medindo 20 x 20 cm foram montados, contendo 10 g de serapilheira, e coletados aos 0, 64, 128 e 256 dias

após a incubação. A extração de DNA foi realizada com a utilização do FastDNA™ Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, EUA), e os quantificados por meio da aplicação da técnica de PCR quantitativo (qPCR)s. Para estudo da composição da comunidade microbiana, uma alíquota do DNA extraído foi utilizada para amplificação da região ITS de fungos e da região V4 do gene que codifica o 16S rRNA de bactérias, e submetido ao sequenciamento de nova geração pela empresa NOVOGENE (Beijing, China). Os dados obtidos a partir do sequenciamento foram analisados no programa *Past* 4.0. A comunidade fúngica, composta por fungos saprotróficos, dominaram a serapilheira em decomposição nas áreas avaliadas. A comunidade bacteriana

dominou as fases de decomposição da serapilheira. Os índices de diversidade e riqueza da composição da comunidade bacteriana e fúngica não apresentaram diferenças entre as áreas. Os filos Ascomycota e Basidiomycota apresentaram maior abundância relativa. O filo Proteobacteria foi o mais abundante da comunidade bacteriana. A abundância relativa dos microrganismos da comunidade fúngica e bacteriana a nível de filo, ordem e gênero foi superior na área não degradada. Portanto, os resultados encontrados indicam que as comunidades fúngica e bacteriana sofreram mudanças no decorrer dos tempos de incubação da serapilheira.

Palavras-chave: Técnicas moleculares. PCR qualitativo. Diversidade microbiana. 16S rRNA. ITS de fungos.

LITTLE MICROBIAL DIVERSITY IN PASTURES IN THE ATLANTIC FOREST BIOME

ABSTRACT

Fungi and bacteria are the engines of decomposition, a fundamental process that regulates biogeochemical cycles. Despite several abiotic and substrate quality studies portraying the rate of microbial decomposition, the impact of community composition on this dynamic remains elusive. To understand this purpose, we evaluated the cycling efficiency in areas of degraded and non-degraded pastures, in the Atlantic Forest Biome, and what is the role of the microbiota in this process. For this, three private properties with degraded pasture area and three properties of Campo Experimental Santa Mônica, belonging to Embrapa Gado de Leite with non-degraded pasture, were selected and monitored during the period from August 2019 to August 2020. That areas belongs to the municipality of Valença-RJ in which the relief is characterized as wavy to mountainous and the predominant soil class is Cambisol. The litter decomposition study was evaluated by the litterbag method, with 24 litterbags measuring 20 x 20 cm containing 10 g of litter, that were collected 0, 64, 128 and 256 days after incubation. The DNA selection was performed using the FastDNATM Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, USA), the ITS and 16S rRNA genes of the fungal and bacterial community of the litter samples were quantified using the PCR technique (qPCR). To study the composition of the microbial community, a certain volume of extracted DNA was sent for next-generation sequencing of the ITS region of fungi and the V4 region of the gene that encodes the rRNA of 16S bacteria. The data from the sequencing were obtained using the *Past 4* program. The fungal community, composed of saprotrophic fungi dominated the decomposing litter in the evaluated areas. The bacterial community dominated the litter decomposition phases. The indices of diversity and richness of the composition of the bacterial and fungal community did not show differences between the areas. The phyla Ascomycota and Basidiomycota showed higher relative abundance. The Proteobacteria phylum was the most abundant in the

bacterial community. The relative abundance of microorganisms from the fungal and bacterial community at the level of phylum, order and genus was higher in the non-degraded area. Therefore, the results found demonstrate that the fungal and bacterial communities underwent significant changes during the litter incubation times.

Keywords: Molecular techniques. qualitative PCR. Microbial diversity. 16S rRNA. Fungal ITS.

5. INTRODUÇÃO

O uso da terra com pastagens é estimado globalmente em aproximadamente 3 bilhões de hectares (FAO, 2019). No Brasil, 18,65% do território é ocupado por pastagens (IBGE, 2017), as quais sustentam o maior rebanho bovino do mundo, em torno de 213 milhões de cabeças de gado (IBGE, 2018). No entanto, estima-se que no Brasil cerca de 48% das áreas de pastagens apresentam algum sinal de degradação (DIAS-FILHO, 2017).

As principais causas de degradação das pastagens são o excesso de lotação animal, falta de adubação e correção de plantio e manutenção, além de técnicas impróprias de semeadura, manejo e preparo do solo. A degradação também pode ocorrer devido a falhas de estabelecimento da pastagem, espécies inadequadas às condições edafoclimáticas locais, uso do fogo, perda de vigor pela ocorrência de pragas e doenças ou por baixa fertilidade do solo e má drenagem (DIAS-FILHO, 2011; ZIMMER et al., 2012).

A decomposição da serapilheira é fundamental para o ciclo biogeoquímico, desempenhando um papel importante na ciclagem de nutrientes (STUART CHAPIN et al., 2012). As características químicas da serapilheira (HOBBIE, 2008) e a microbiota do solo também influenciam na decomposição da serapilheira (GARCÍA-PALACIOS et al., 2016). Diversos estudos relatam que os elementos climáticos, especialmente temperatura e precipitação, são alguns dos principais reguladores da variação no aporte de serapilheira e na velocidade de degradação deste material sobre o solo (MUROVHI et al., 2012, FERREIRA et al., 2014, ZHANG et al., 2014; ROZENDAAL et al., 2019; SALK et al., 2020).

Entretanto, Marques e colaboradores (2004) concluíram que a taxa de decomposição da serapilheira é também influenciada por vários outros fatores, principalmente pela razão entre o carbono e nitrogênio (C/N) do material que a compõe. Quando essa relação é baixa, a decomposição é favorecida, pois, a quantidade de N influencia a velocidade da sua decomposição, ou seja, resíduos com alta relação C/N demoram mais para serem decompostos, pois possuem maior recalcitrância. No entanto, ainda não estão elucidados os potenciais efeitos da interação desses fatores no processo de decomposição.

Os microrganismos do solo podem contribuir com até 100% da

decomposição de serapilheira (VAN DER HEIJEN et al., 2008). Desta forma, caso haja alguma alteração na comunidade, em abundância ou até na riqueza de espécies, pode ocorrer mudanças nas taxas de decomposição, afetando o balanço e a ciclagem de nutrientes no ecossistema (HÄTTENSCHWILER et al., 2005), como no trabalho de Handa et al. (2014), que observaram menor ciclagem de C e N com a redução dos grupos de decompositores do solo.

Segundo Gonçalves; Diniz, (2008) os ecossistemas possuem duas divisões fundamentais nos processos de ciclagem de nutrientes: os produtores e os decompositores. A primeira divisão é composta por plantas vasculares, e a outra pelos fungos, bactérias e outros microrganismos decompositores. Portanto, esse processo é desempenhado por diferentes grupos de fungos e bactérias capazes de degradar moléculas como celulose, hemicelulose e lignina (KURAMAE et al., 2013; PURAHONG et al., 2014; PERŠOH, 2015). Ainda neste contexto, o papel das atividades metabólicas das bactérias para a degradação da serapilheira ainda está em debate.

Apesar das sínteses abrangentes de estudos sobre como a biodiversidade microbiana afeta a decomposição da serapilheira (HÄTTENSCHWILER et al., 2005; GESSNER et al., 2010; CARDINALE et al., 2011; HOOPER et al., 2012), ainda existem questões-chave que precisam ser elucidadas. Estas questões incluem quando, onde e como a biodiversidade tem um papel na degradação da serapilheira, e se padrões e mecanismos gerais ocorrem em ecossistemas e nas diferentes atividades metabólicas dos microrganismos (BALVANERA et al., 2006; GESSNER et al., 2010; CARDINALE et al., 2012; HOOPER et al., 2012)

Embora alguns autores considerem que a comunidade bacteriana provavelmente facilita a atividade dos fungos decompositores fornecendo elétrons ou micronutrientes essenciais, sendo assim indispensáveis para a degradação da serapilheira (FREY-KLETT et al., 2011), outros estudos postulam que as bactérias simplesmente colonizam a interface solo-serapilheira, e se beneficiam de substâncias prontamente disponíveis devido a degradação de macromoléculas complexas por exoenzimas fúngicas (BOER et al., 2005; ROMANÍ et al., 2006).

No entanto, estudos recentes usando métodos moleculares

sugerem que a comunidade fúngica e bacteriana co-ocorrem e podem interagir durante o período de decomposição da serapilheira (PURAHONG et al. 2015; URBANOVÁ et al. 2015).

Sendo assim, as mudanças climáticas e o manejo do solo e da pastagem podem alterar a taxa de decomposição da serapilheira e a comunidade microbiana em áreas de pastagens. No entanto, faltam estudos que contextualizem a importância relativa desses fatores. Diante do exposto, objetivou-se avaliar a dinâmica da decomposição da serapilheira em áreas de pastagem não degradada e degradada, no Bioma Mata Atlântica, e o papel da microbiota neste processo. A hipótese é que as áreas de pastagem apresentam diferenças na composição da serapilheira, e que o tempo possibilita o desenvolvimento de grupos microbianos específicos.

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Descrição, caracterização e *design* experimental das áreas de estudo

O experimento foi conduzido em três áreas privadas e em três áreas no Campo Experimental Santa Mônica (CESM), pertencente a Embrapa Gado de Leite, no Distrito de Barão de Juparanã, Valença-RJ. O histórico de uso da terra na região segue a cronosequência vegetação nativa, cafeicultura e pastagem. Todas as áreas estão localizadas no bioma Mata Atlântica.

De acordo com a classificação de Köppen, o clima é do tipo Cwa, caracterizado por inverno seco e verão chuvoso (ALVARES et al., 2013). Os dados médios de precipitação pluvial e de temperatura do ar durante o período experimental são apresentados na Figura 5.

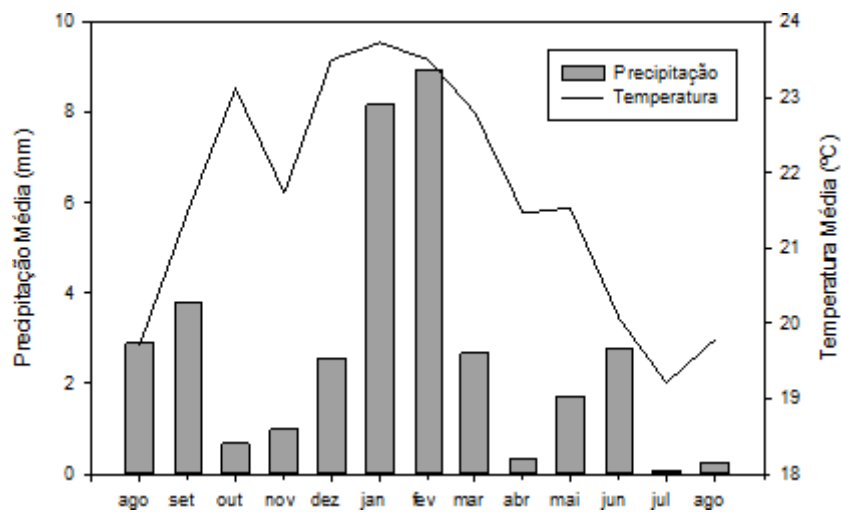


Figura 5. Dados médios de Precipitação (mm) e Temperatura (° C) no período de agosto de 2019 a agosto de 2020

Fonte: Inpe, 2020.

O relevo é classificado como fortemente ondulado (20 a 45% de declive) alternando com montanhoso (45 a 75% de declive), caracterizado pelo predomínio de colinas dissecadas, morrotes e morros baixos (DANTAS, 2000; SANTOS et al., 2010).

As áreas estão inseridas em um ambiente denominado de “Mar de Morros”, composto por um conjunto de colinas com distintos graus de dissecação, englobando toda a extensão do Planalto Atlântico, tendo como principal material de origem rochas ácidas. As topossequencias são geralmente formadas pelas seguintes classes de solos: Cambissolos e Argissolos (DANTAS, 2000; SANTOS et al., 2010).

As áreas de pastagens selecionadas para o presente estudo foram previamente classificadas por Valle (2018) de acordo com a classificação visual de SAPAIN; GUALDRÓN, (1991), sendo classificadas como pastagem não degradada (ND) (Figura 6) e degradada (D) (Figura 7).



Figura 6. Área de pastagem não degradada (ND) pertencente ao CESP localizada no município de Valença-RJ.

Fonte: Armacolo (2021).



Figura 7. Área de pastagem degradada (D) em uma das propriedades privadas (R1) localizada no município de Valença-RJ.

Fonte: Armacolo (2021).

As áreas classificadas como "não degradadas" apresentavam degradação leve, com predomínio da forrageira *Urochloa decumbens* cv. Basilisk ou *Urochloa brizantha* cv. Marandu. As áreas "degradadas" apresentavam maior ocorrência de solo exposto, com nenhum ou poucos indícios de erosão do tipo laminar ou em sulcos.

As áreas (não degradadas e degradadas) foram consideradas como tratamentos e as propriedades rurais (três áreas privadas e três áreas do CESM) como repetições (Figura 8).

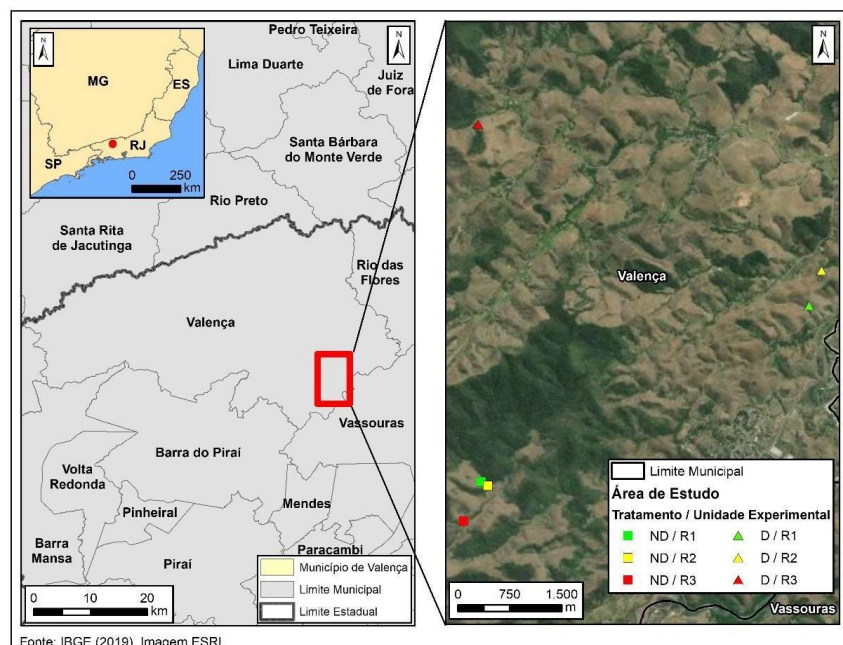


Figura 8. Mapa do Estado do Rio de Janeiro, em ampliação o município de Valença e a localização espacial dos tratamentos (ND = Pastagem não degradada, D= Pastagem Degradada) e das repetições (R1 = Repetição 1. R2 = Repetição 2. R3 = Repetição 3).
Fonte: IBGE, 2019

Com a finalidade de padronizar o tamanho da parcela experimental, nas áreas avaliadas as coletas e o monitoramento foram realizadas no terço médio (posição centrada na encosta) e com a predominância de *Urochloa decumbens* cv. Basilisk e/ou *Urochloa brizantha* cv. Marandu. O solo das áreas foi identificado como Cambissolo, a partir da avaliação visual do solo. Com base no mapa de solos, foi possível afirmar o primeiro nível categórico, e inferir que o solo das propriedades se trata de um Cambissolo Háplico Tb distrófico, conforme descrito em Santos et al., (2010).

Em relação ao pH em água no solo, as áreas degradadas apresentaram maior acidez ativa em ambas as camadas, 0,0-0,10 e 0,10-0,20 m em comparação com as áreas de pastagens não degradadas (VALLE, 2018). Com base no Manual de Calagem e Adubação do Estado do Rio de Janeiro e considerando os valores de pH em água, pode-se dizer que o solo das áreas de pastagem degradadas é classificado como fortemente ácido (FREIRE, 2013).

Nas áreas não degradadas foram verificadas maiores concentrações de cátions em superfície por tratar-se da camada com maior atividade biológica, presença de MOS e ciclagem de nutrientes (VALLE, 2018).

No entanto, a acidez do solo evidenciada pelos baixos valores de pH, sobretudo na área degradada, contribui para a remoção de cátions ao longo do perfil do solo (VALLE, 2018). Desta forma, as menores concentrações de Ca^{2+} Mg^{2+} e K^+ são encontradas em ambas as profundidades (0,0-0,10 e 0,10-0,20 m) para todas as áreas avaliadas (VALLE, 2018).

De acordo com o Manual de Calagem e Adubação do Estado do Rio de Janeiro, que estabelece valores de referência para as concentrações de Ca^{2+} Mg^{2+} , verifica-se que apenas as áreas de pastagens não degradada na camada de 0,0 -0,10 m apresentam valores satisfatórios (VALLE, 2018). Informações complementares como, taxa de lotação, época de formação da pastagem, manejo do pasto e sistema de pastejo constam da Tabela 3.

Tabela 3. Manejo do solo e da pastagem, sistema de pastejo, época de formação da pastagem e histórico do uso dos tratamentos avaliados.

Trat. ¹	Rep ²	Taxa de lotação (UA/ha)	Manejo da pastagem	Sistema de Pastejo
ND ³	R1	0,8 UA/ha, desde 2015.	Não realiza adubação, calagem e irrigação	Sistema de pastoreio rotacionado
	R2			
	R3			
D ⁴	R1	2 UA/ha, desde 2016.	Sistema de pastoreio extensivo	
	R2			
	R3	1 UA/ha		

¹Trat=tratamento; ²Rep=repetição; ³ND=Não degradada; ⁴D=Degradada.

6.2 Coleta da forragem, preparação e processamento dos *litterbags* para avaliação da dinâmica de decomposição da serapilheira.

A coleta da forragem para incubação dos *litterbags* (sacos de decomposição) foi realizada no mês de agosto de 2019. As amostras de forragem foram colhidas manualmente próximas ao solo, e em seguida foram colocadas em sacos de *ráfia* devidamente identificados e transportados para o Laboratório de Tecido Vegetal do Campo Experimental da Fazenda Santa Mônica.

A decomposição de serapilheira foi avaliada pelo método do *litterbags* durante o período de agosto de 2019 a agosto de 2020, conforme adaptações da técnica descrita por Gholz et al. (2000). Para uniformizar o componente morfológico da forragem presente nos *litterbags*, a serapilheira foi caracterizada para todas as avaliações como material senescente conectado à planta. Portanto, em laboratório, os componentes morfológicos da forragem (material verde e material senescente) foram separados manualmente (Figura 5) e acondicionados em sacos de papel e levados à estufa a 55°C por 72 horas para obtenção do peso seco das amostras.

Posteriormente, amostras de 10 g de serapilheira foram separadas e colocadas em *litterbags* medindo 20 x 20 cm, com poros de 4/6 mm na parte inferior e 5/15 mm na superior (Figura 10), os quais foram fechados com auxílio de uma seladora. Os *litterbags* com as amostras de serapilheira foram dispostos sobre o solo (incubados) nos tratamentos, em locais protegidos por telas de vergalhão, para evitar que os animais presentes nas propriedades os transportassem para outros lugares, dificultando sua coleta. Os sacos foram cobertos com a serapilheira existente no local da incubação.

As coletas foram realizadas aos 0, 64, 128 e 256 dias após a incubação. O tempo zero constou da serapilheira utilizada para os demais tempos, mas não incubado. Após a coleta, os *litterbags* foram levados para o laboratório e armazenados em temperatura de -20°C.

Para a extração do DNA das amostras de serapilheira foram retiradas as partículas de solo aderidas nas amostras, as amostras foram destorroadas manualmente e, posteriormente, utilizou-se um pincel de cerdas macias seguido por peneiramento. As partículas de solo remanescentes foram retiradas a partir de um processo de liofilização, por aproximadamente 1h15min, em um liofilizador de bancada vertical, modelo SL 404. Em seguida, as amostras de serapilheira foram maceradas em nitrogênio líquido com o uso de almofariz e pistilo de cerâmica. O material resultante da moagem foi utilizado para a extração de DNA, com a utilização do kit FastDNA™ Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, EUA), de acordo com o protocolo fornecido pelo fabricante.

6.3 Quantificação do gene ITS para estudo da comunidade de fungos e do gene rrs para estudo da comunidade de bactérias

A partir do DNA extraído, foi quantificado o gene ITS da comunidade de fungos e o gene que codifica o 16S rRNA (gene *rrs*) da comunidade de bactérias das amostras de serapilheira, por meio da aplicação da técnica de PCR quantitativo (qPCR). Utilizando o kit GoTaq® qPCR Master Mix, as reações foram montadas e distribuídas em placas MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate (Thermo Fisher Scientific, EUA). Em cada placa foi usado um controle negativo, sem adição de DNA, e oito diluições plasmidiais (10^9 a 10^2 cópias) para padronização da quantificação (CUER, C.A et al., 2018), sendo cada reação aplicada em triplicata técnica. As condições de quantificação foram: desnaturação inicial a 95 °C por 20 segundos; 40 ciclos de i. Desnaturação (95°C por 3 segundos); ii. Anelamento (72°C por 20 segundos; e alongamento (72°C por 45 segundos). Curva de disassociação: 95 °C por 1 segundo; 60 °C por 20 segundos e 95°C por 1 segundo. O aparelho utilizado para o qPCR foi o QuantStudio 3 (Applied Biosystem, EUA), na modalidade *fast*, com configuração para excitação de Sybr Green, sendo visualizada a fluorescência ao fim das etapas de alongamento de cada ciclo.

Foram realizadas quantificações absolutas baseadas na curva padrão criada pelas diluições plasmidiais. O número de cópias quantificadas foi normalizado para o peso (g) da serapilheira, após moagem para extração de DNA. A eficiência das reações foi calculada pela equação: $E = -1 + 10^{(-1/\text{slope})}$.

6.4 Sequenciamento da região ITS de fungos e do gene que codifica o 16S rRNA de bactérias e análises de bioinformática

O DNA extraído foi liofilizado a -675 mmHg em temperatura de - 30 °C, por aproximadamente 2 h 45 min, em um liofilizador de bancada vertical, modelo SL 404. As amostras foram posteriormente enviadas para sequenciamento de nova geração da região V4 do gene que codifica o 16S rRNA, para a empresa NOVOGENE Corporation (Beijing, China).

Os *primers* utilizados para a amplificação, por PCR (Polymerase Chain Reaction) da região V4 do gene que codifica o 16S rRNA foram o 515F (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) e 806R (GGACTACNNGGTATCTAAT) (Sundberg et al., 2013), que geram fragmentos de aproximadamente 300 pares de base. Para o sequenciamento foi usado o sistema MiSeq (Illumina, USA)

paired-end.

Já os *primers* utilizados para a amplificação, por PCR, da região V4 do gene que codifica o ITS1 foram o ITS5-1737F (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) e ITS2-2043R (GCTGCGTTCTTCATCGATGC), que geram fragmentos de no mínimo 200 e máximo 400 pares de base.

Os dados obtidos foram analisados através do *software* Mothur v. 1.42.2 (SCHLOSS et al., 2009), com a montagem dos *contigs*, remoção de sequências de baixa qualidade, eliminação de redundâncias, alinhamento, pré-cluster, remoção de quimeras e de contaminantes, definição das unidades taxonômicas operacionais (OTUs), remoção dos *singletons* e normalização do número de sequências por amostras. Foram exportados do *software* a matriz de distribuição de OTUs, a curva de rarefação, índices de alfa diversidade e a abundância relativa baseada na classificação taxonômica. Os dados foram trabalhados e submetidos às análises estatísticas.

6.5 Análise estatística

Os dados obtidos a partir do sequenciamento foram analisados no programa Past 4.0 (HAMMER et al., 2001). A diversidade (Shannon), a riqueza (número de OTUs) e os principais táxons que representam a comunidade de fungos e bactérias em nível de filo, ordem e gênero foram submetidos a análise de variância (ANOVA) de duas vias. Para essa análise, os dados foram testados quanto à normalidade e/ou a homocedasticidade, com transformação por Box Cox, quando necessário. Foram considerados como fatores independentes as áreas (pastagem não degradada e pastagem degradada) e os tempos (0, 64, 128 e 256 dias após a incubação).

A partir da matriz de distribuição de OTUs, foi realizado um escalonamento multidimensional não métrico (nMDS) e Análise de Coordenadas Principais (PCoA) com índice de dissimilaridade de Bray-Curtis, sendo testado o efeito das áreas e tempos de incubação por uma PERMANOVA de duas vias.

Os dados de quantificação dos genes a partir do qPCR foram submetidos a um teste de normalidade e/ou homocedasticidade, seguido de

transformação por Box Cox, quando necessário. A partir dessas avaliações foi então realizada uma ANOVA de duas vias.

7. RESULTADOS

7.1 Perfil estrutural da comunidade de fungos

A abordagem de qPCR (baseada na extração de DNA) foi utilizada para quantificar as células microbianas e compará-las entre os dois cenários estudados. A quantificação do gene ITS mostrou que o número de cópias foi maior no tempo 0 da área degradada, apresentando menores números aos 64 e 256 dias de incubação. A área não degradada apresentou visualmente maior número de cópias aos 64 dias de incubação. Entretanto, o número de cópias do gene ITS não foi influenciado pelas áreas e dias de incubação (ANOVA de duas vias) (Figura 9).

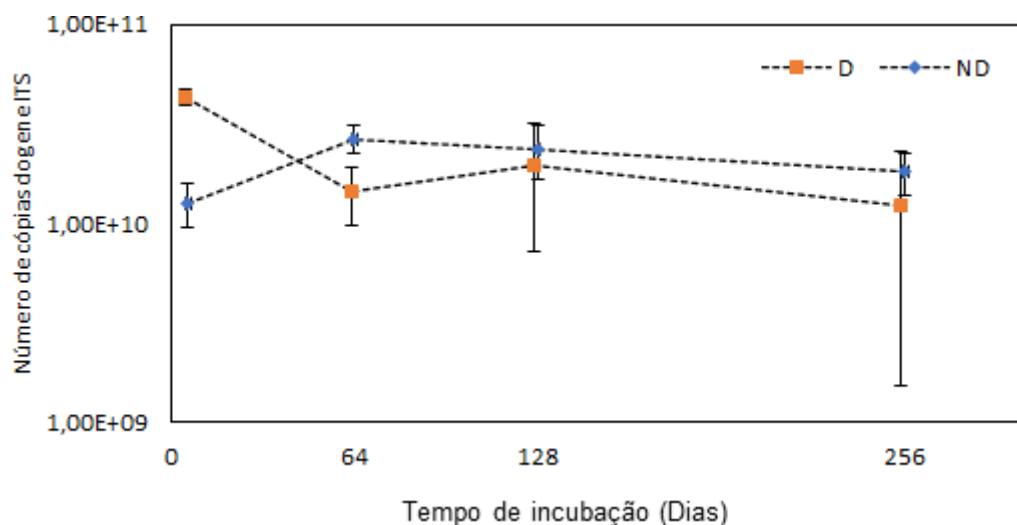


Figura 9. Número de cópias do gene ITS em áreas de pastagem degradadas (D) e não degradadas (ND) nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras correspondem ao erro padrão.

Os maiores índices de diversidade (Shannon) foram observados na área de pastagem não degradada, decrescendo conforme o aumento do tempo de incubação (Figura 10). Entretanto, a área de pastagem degradada não apresentou a mesma tendência. As áreas degradadas apresentaram maiores índice de diversidade a partir de 64 dias de incubação do material vegetal. Apesar desta diferença entre os índices nas áreas de pastagem e os tempos de incubação, não foi possível observar diferença significativa ($p \geq 0,05$), quando aplicada a ANOVA de duas vias.

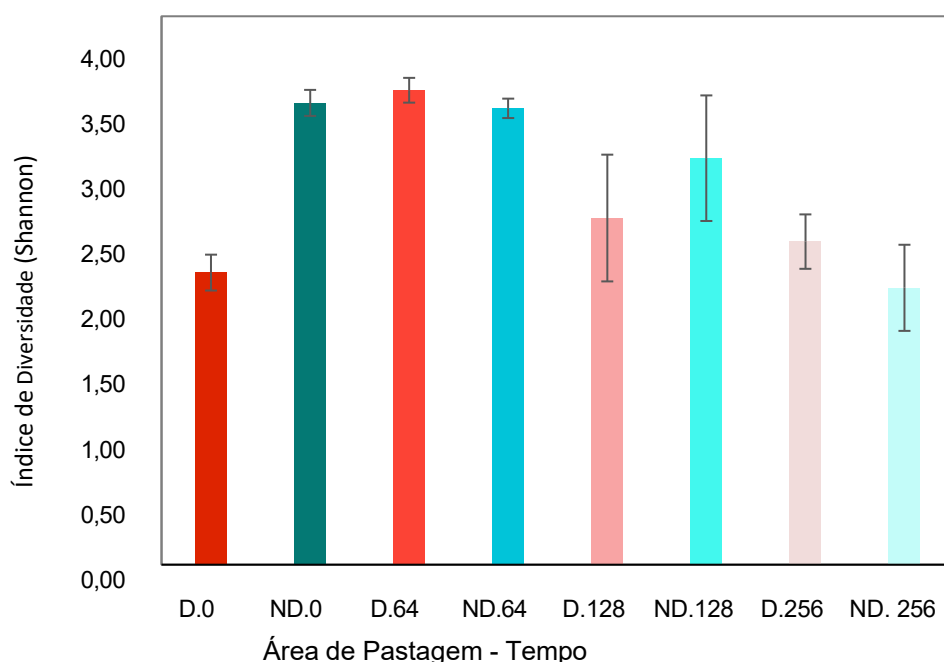


Figura 10. Diversidade (Shannon) fúngica baseada no sequenciamento massivo do gene que codifica o ITS nas áreas de pastagem degradada (D) e não degradada (ND) nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras correspondem ao erro padrão das amostras.

Ao comparar o índice de riqueza (Chao) entre as áreas, a pastagem não degradada apresentou valores de riqueza superiores à pastagem degradada. Entretanto, não foi possível verificar influência significativa entre os tratamentos e tempos de incubação avaliados ($p \geq 0,05$). Observou-se tendência similar na área degradada, onde os maiores valores de riqueza ocorreram nos tempos iniciais de incubação (Figura 11).

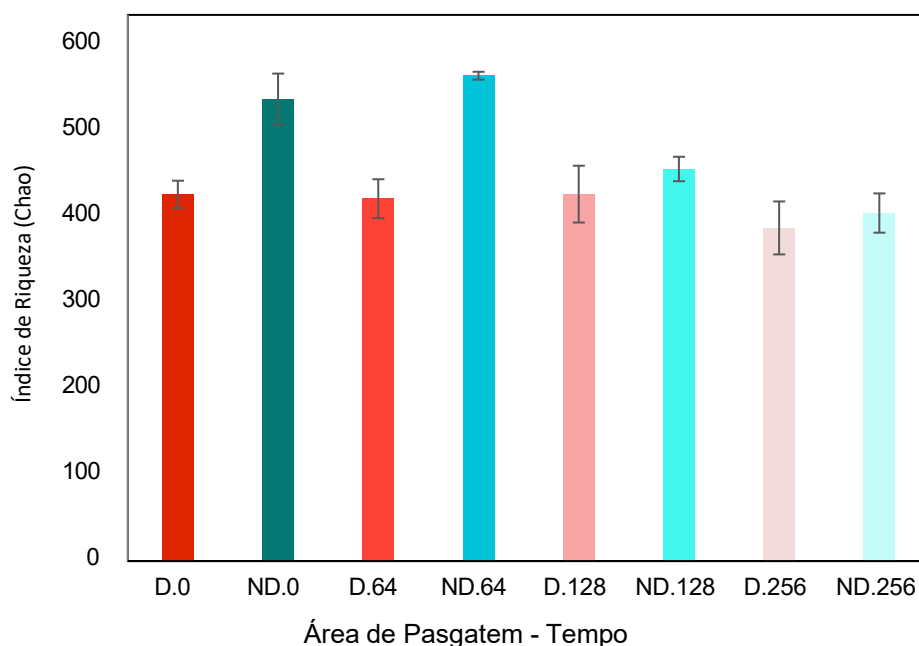


Figura 11. Índice de Riqueza (Chao) fúngica baseada no sequenciamento massivo do gene que codifica o ITS nas áreas de pastagem degradada (D) e não degradada (ND) nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras correspondem ao erro padrão das amostras.

A avaliação da beta diversidade nas áreas foi realizada através de Escalonamento Multidimensional não-Métrico (nMDS), utilizando o índice de dissimilaridade de Bray-Curtis. Observou-se que as áreas de pastagens, independente do estágio de degradação, possuem maior beta diversidade nos tempos de incubação finais, ou seja, esses tempos apresentam menor estabilidade nas áreas avaliadas. Foi possível observar que as áreas não degradadas apresentam tendências similares em relação a distribuição da comunidade fúngica nos diferentes tempos de incubação (Figura 12).

A área de pastagem não degradada nos tempos 128 e 256 dias de incubação apresentaram distribuição semelhante, com alta beta diversidade. Por sua vez, a área de pastagem degradada apresentou distribuição da comunidade fúngica similar nos tempos 64 e 128 dias de incubação, em que o tempo de 128 dias apresentou alta beta diversidade. Ademais, o tempo 256 da área de pastagem degradada obteve alta diversidade se sobrepondo ao tempo de incubação 0 (Figura 12).

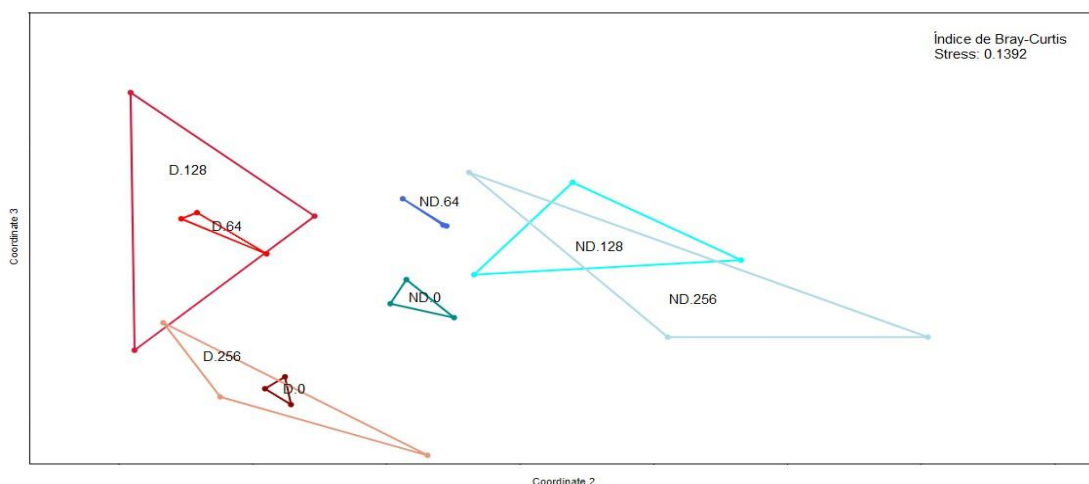


Figura 12. Ordenação de Escala Multidimensional não-Métrica (nMDS), com índice de dissimilaridade de Bray-Curtis de distribuição de OTUs em áreas de pastagem degradadas (D) representadas pelos tons de vermelho e em áreas não degradadas (ND) pelos tons de azul, nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias).

Em relação à composição da comunidade fúngica a nível de filo, encontrou-se o total de oito táxons. Desse total, os táxons Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota e Mortierellomycota foram os que apresentaram maiores abundâncias relativas, contemplando 84,7% das sequências obtidas. Os demais filós não representam 1% das sequências e foram classificados como outros. Quinze por cento das sequências não foram classificadas a nível de filo (Figura 13).

O filo Ascomycota foi predominante nas duas áreas de pastagens, ND e D, com maior abundância nos últimos tempos de incubação. Basidiomycota foi o segundo filo mais abundante, apresentando diferença em sua abundância relativa para as áreas e tempos de incubação (ANOVA de duas vias). (Figura 13).

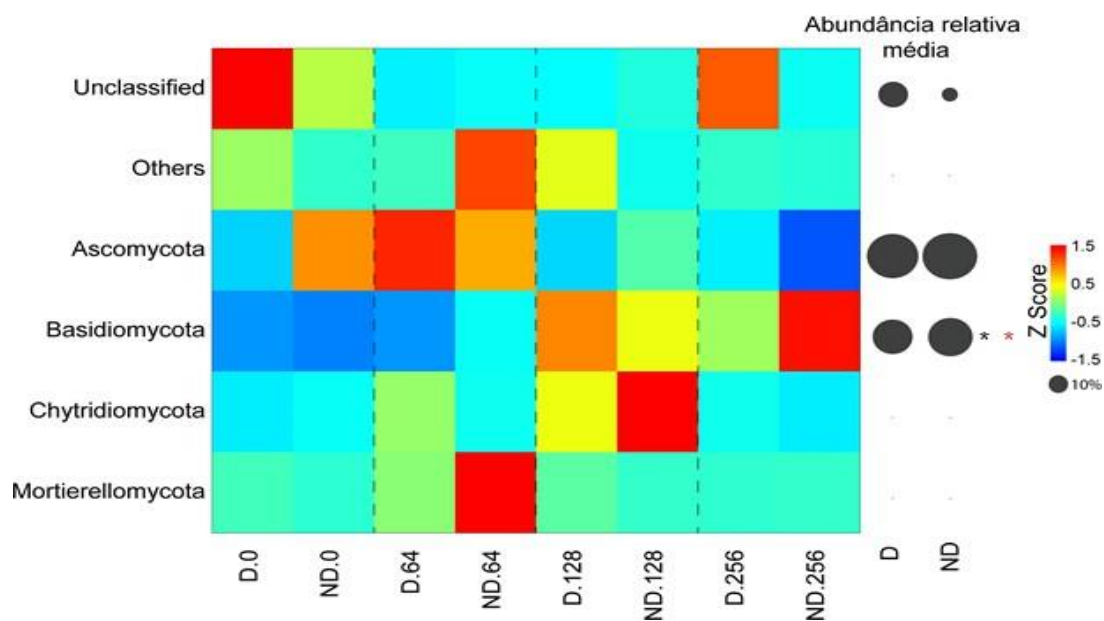


Figura 13. Abundância relativa média de filos de fungos encontradas a partir do sequenciamento do gene que codifica o ITS, nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão dos dados à ANOVA de duas vias, a diferença estatística entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. Os dados representados por “others” e “unclassified” não foram avaliados estatisticamente por agruparem mais de um táxon.

Observando a comunidade fúngica a nível de ordem, foram sequenciados noventa táxons distintos. Destes, dezesseis apresentaram abundância relativa de 69%. Foram encontradas sete ordens do filo Basidiomycota, sete do filo Ascomycota, uma do filo Mortierellomycota e, por fim, uma do filo Chytridiomycota. Os demais apresentaram 5% das sequências e 26% não puderam ser classificadas a nível de ordem (Figura 14).

De maneira geral, o tempo de incubação influenciou a abundância relativa a nível de ordem. Dos táxons apresentados na Figura 10, com exceção de Agaricales, verificou-se diferenças significativas (ANOVA de duas vias, $p=0,064$) entre os tempos de incubação. Em relação às áreas de pastagens degradadas, as ordens Capnodiales, Chaetothyriales e Agaricales apresentaram influência do estágio de degradação (ANOVA de duas vias, $p \leq 0,05$). Na área não degradada, observou-se maior abundância relativa de Capnodiales, Trichosphaeriales, Sordariales, Chaetothyriales, Xylariales, Hymenochaetales e Trechporales. No entanto, os taxons Polyporales, Russulales, Cantharellales, Conioscyphales, Tubeufiales, Corticiales,

Pleosporales, Hypocreales e Agaricales apresentaram abundância relativa elevada na área degradada.

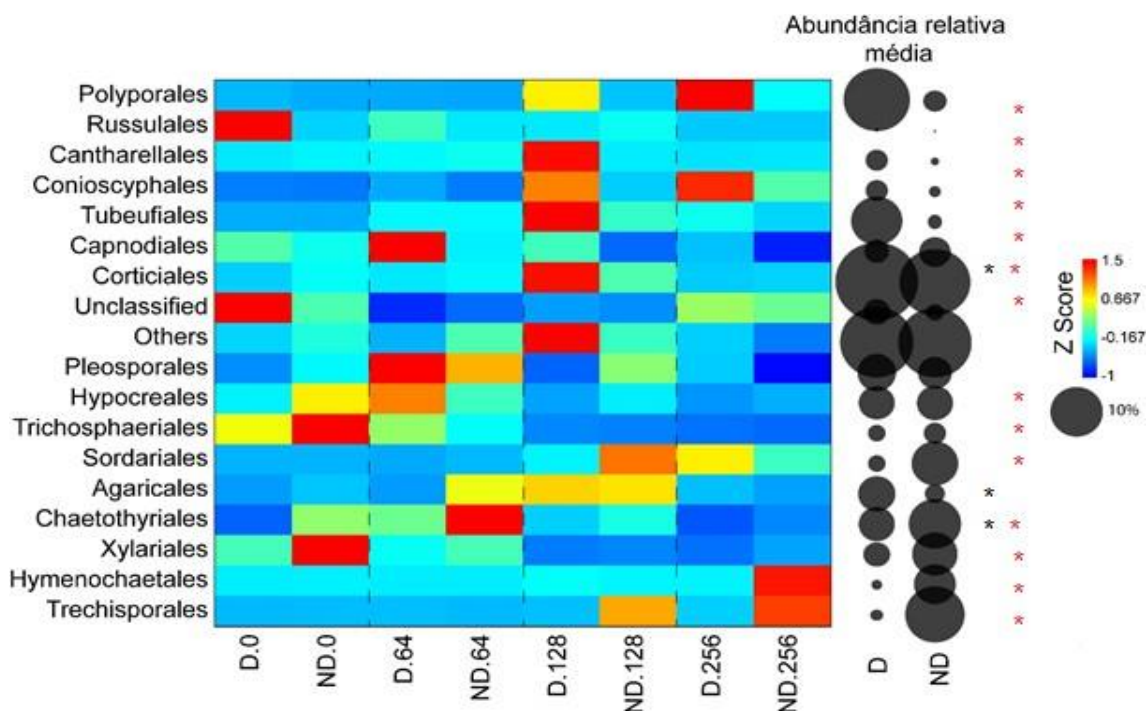


Figura 14. Abundância Relativa média da ordem de fungos encontrada a partir do sequenciamento do gene que codifica o ITS, nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão dos dados à ANOVA de duas vias, a diferença estatística entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. Os dados representados por “others” e “unclassified” não foram avaliados estatisticamente por agrupar mais de um táxon.

A comunidade fúngica a nível de gênero apresentou 290 táxons. Na Figura 15 observa-se que dos quinze gêneros classificados, os que apresentaram maior abundância relativa total foram: *Trechispora* (5,10%), *Phialophora* (4,55%), *Microdochium* (3,76%) e *Pyrenochaetopsis* (3,46%) sendo oito pertencentes ao filo Ascomycota, cinco do filo Basidiomycota, uma ao filo Mortierellomycota e uma ao filo Chytridiomycota. As sequências não classificadas a nível de gênero somam 45% e os gêneros com abundância relativa total menor que 1% representam 21% das sequências.

Os gêneros *Phialophora*, *Pyrenochaetopsis*, *Xenopenidiella*, *Teichospora* e *Periconia* foram influenciados pelas áreas de pastagens e também pelos tempos de incubação da serapilheira (ANOVA de duas vias).

Houve diferença significativa (ANOVA de duas vias) nos tempos de incubação para os gêneros *Microdochium*, *Paraphaeosphaeria*, *Nigrospora*, *Cladosporium* e *Paraconiothyrium*. Embora haver diferença visual entre os gêneros *Trechispora* e *Crinipellis*, não se observa diferença significativa entre as áreas de pastagens (Figura 15).

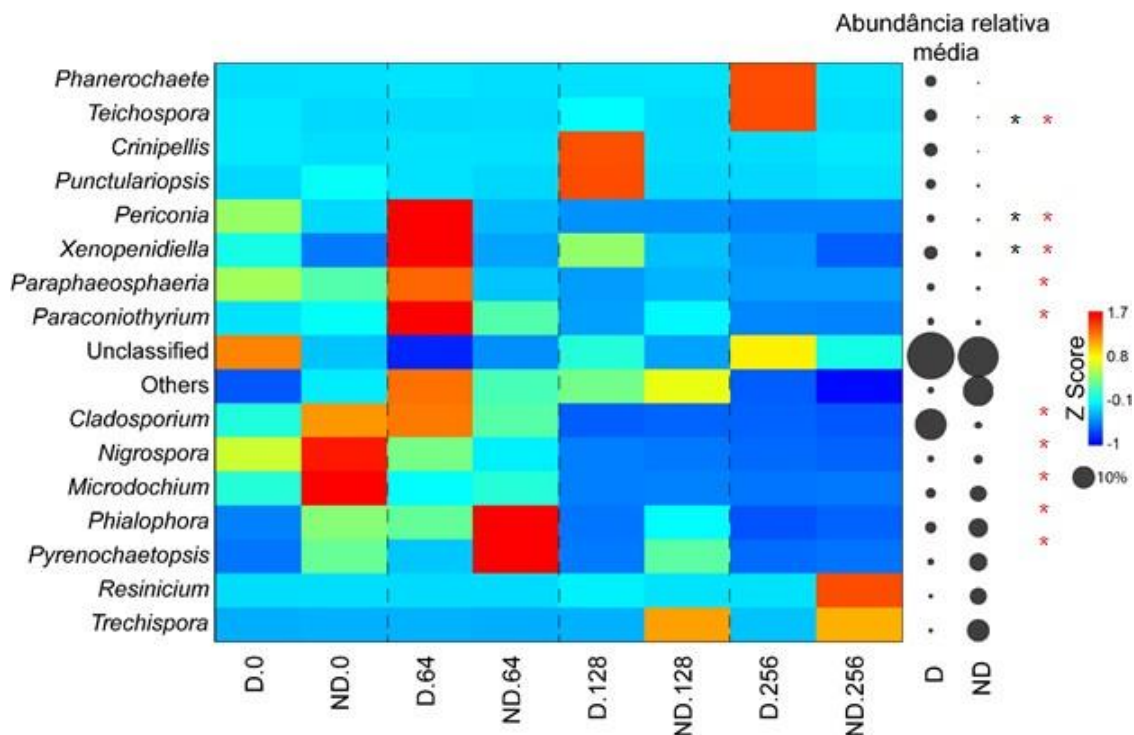


Figura 15. Abundância relativa média do gênero de fungos encontradas a partir do sequenciamento do gene que codifica o ITS, nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão dos dados a ANOVA de duas vias, a diferença estatística entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. Os dados representados por “others” e “unclassified” não foram avaliados estatisticamente por agrupar mais de um táxon.

7.2 Perfil estrutural da comunidade de bactérias

A quantificação (qPCR a partir do DNA) do gene que codifica 16S rRNA indicou que o número de cópias apresenta diferença significativa entre as áreas de pastagens degradadas e não degradadas ($p=0,02412$). O número de cópias aos 64 dias de incubação foi superior aos demais nas áreas de pastagens avaliadas, com menores números nos tempos 0 e 256 dias de incubação. Contudo, não foi possível observar um impacto significativo entre os tempos de incubação ($p=0,1273$) (Figura 16).

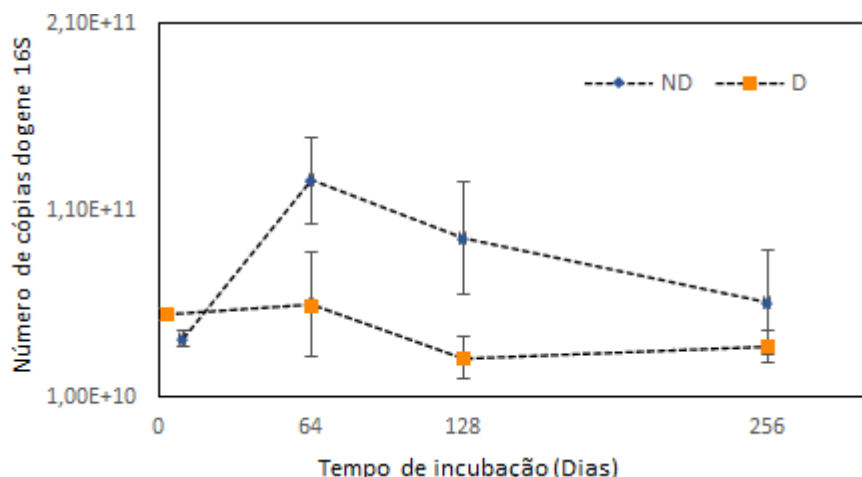


Figura 16. Número de cópias de transcritos do gene que codifica 16S rRNA em áreas de pastagem degradadas (D) e não degradadas (ND), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras apresentam erro padrão da média.

Na Figura 17, a curva de rarefação ilustra boa cobertura de OTUs da comunidade bacteriana, com tendência da curva do gráfico em atingir um “platô”. Este resultado foi obtido após a filtragem de qualidade e subamostragem, as quais apresentaram 3.000 sequências, obtendo 20.000 sequências por amostra.

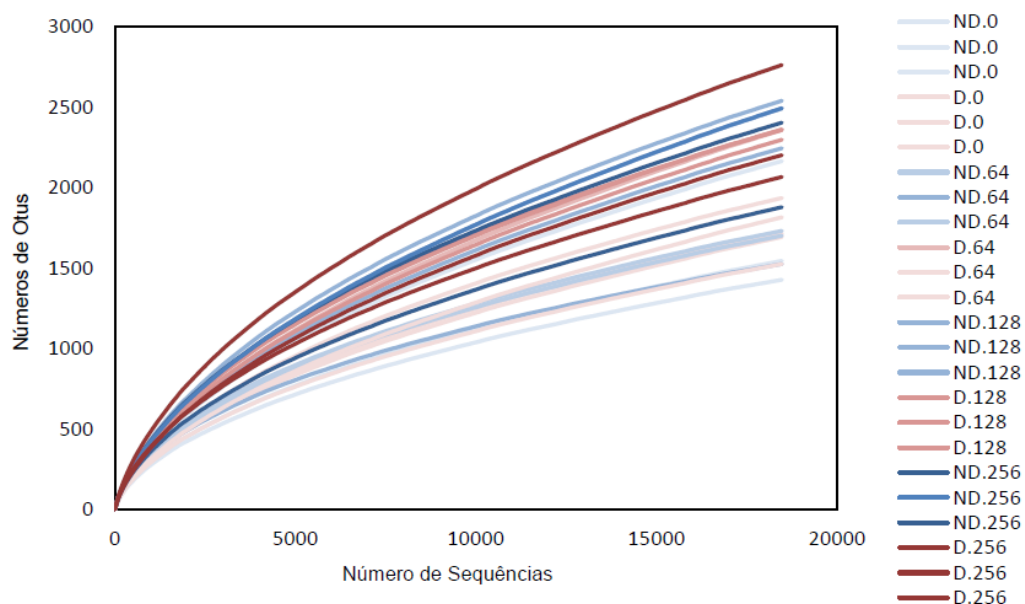


Figura 17. Curva de rarefação das amostras de serapilheira coletadas nas áreas de pastagem degradadas (D) - representadas pelos tons de vermelho - e áreas de pastagem não degradadas (ND) - representadas pelos tons de azul, nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias).

Para entender a alfa diversidade da comunidade bacteriana foram avaliados o Índice de Diversidade (Shannon) e o Índice de Riqueza (Sobs). Observou-se que as áreas apresentaram tendência similar para o Índice de Diversidade, mas, quando aplicada a ANOVA de duas vias não houve diferença significativa ($p=0,7821$). Já, para os tempos de incubação houve diferença somente entre as áreas de pastagens ($p=0,00124$) (Figura 18).

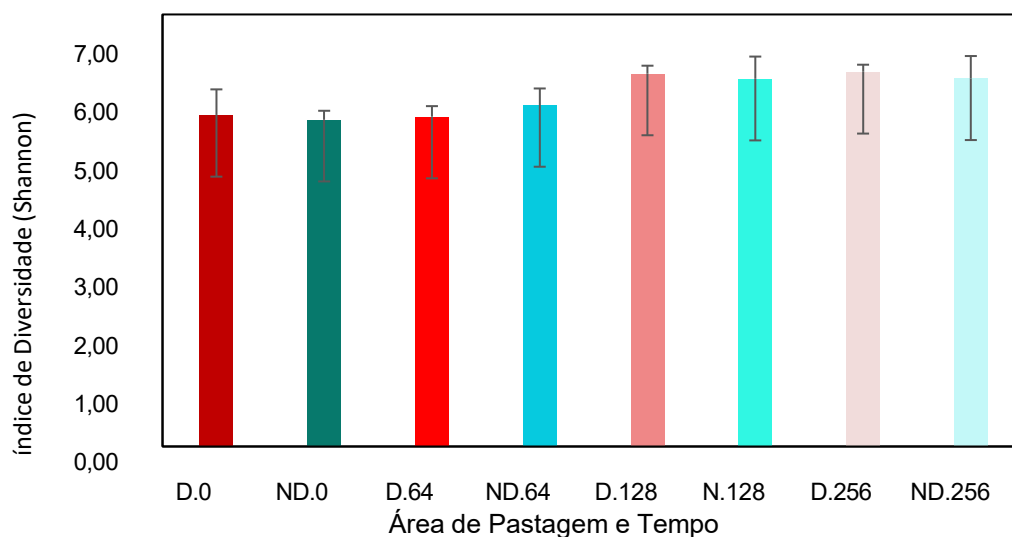
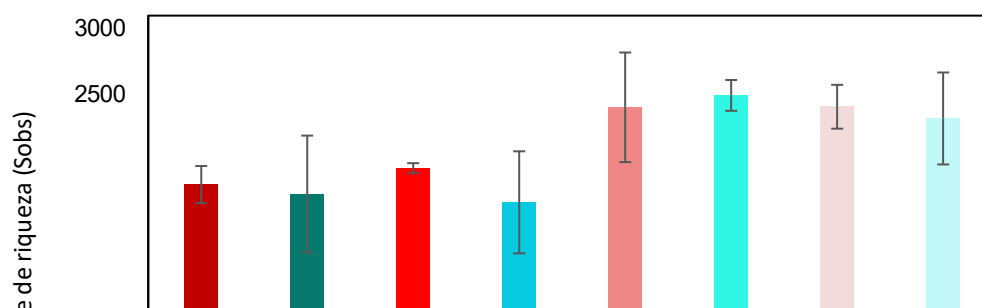


Figura 18. Índice de Diversidade (Shannon) bacteriana baseada no sequenciamento massivo do gene que codifica o 16 rRNA nas áreas de pastagem degradada (D) e não degradada (ND), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras representam o erro padrão das amostras.

O Índice de Riqueza (Sobs) teve comportamento semelhante ao de Diversidade, e também não houve diferença significativa entre as áreas ($p=0,7578$). Os tempos de incubação 128 e 256 dias apresentaram uma riqueza bacteriana superior aos tempos de incubação iniciais, portanto, o Índice foi impactado significativamente pelos tempos de incubação ($p= 0,0005419$) (Figura 19).



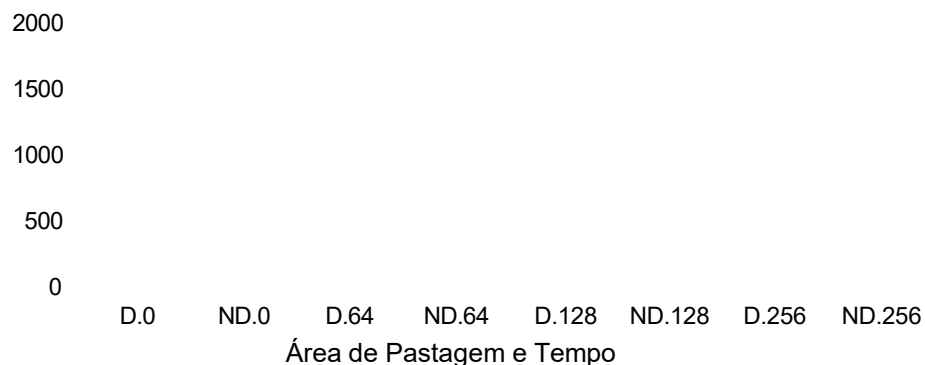


Figura 19. Índice de Riqueza (Sobs) bacteriana baseada no sequenciamento massivo do gene que codifica 16 rRNA das áreas de pastagem degradada (D) e não degradada (ND), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). As barras representam o erro padrão das amostras.

Para a avaliação da beta diversidade realizou-se a Ordenação de Escala Multidimensional de Coordenadas Principais (PCoA) com índice de dissimilaridade de Bray-Curtis (Figura 20).

As áreas de pastagem compartilharam uma distribuição da comunidade bacteriana similar em relação aos diferentes tempos de incubação. Os maiores tempos de incubação apresentaram maior dispersão entre as amostras, o que indica maior beta diversidade e menor estabilidade em relação às áreas (Figura 20).

Entretanto, o tempo de incubação de 128 dias da área de pastagem degradada apresentou comportamento de transição dos tempos inferiores para o último tempo de incubação, e apresentou a menor beta diversidade (Figura 20).

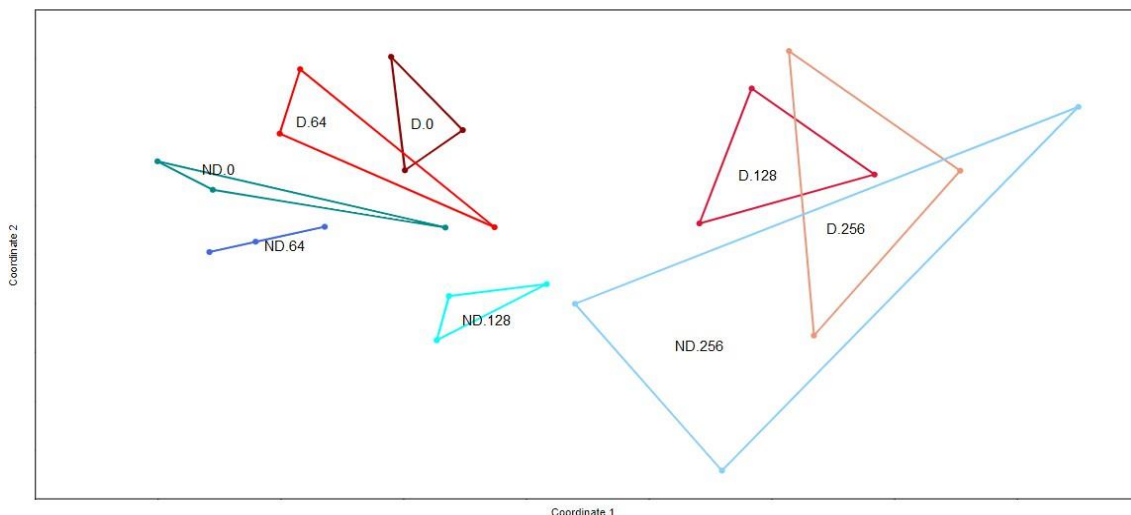


Figura 20. Ordenação de Escala Multidimensional de Coordenadas Principais (PCoA) com índice de dissimilaridade de Bray-Curtis de distribuição de OTUs em áreas de pastagem degradadas (D) representadas pelos tons de vermelho e de pastagem não degradadas (ND) representadas pelos tons de azul, nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias).

Observando a composição da comunidade bacteriana, aproximadamente 94% das sequências foram atribuídas a nível de filo, sendo que os táxons Proteobacteria (50%), Actinobacteria (25%) e Bacteroidetes (9%) apresentaram, visualmente, maiores abundâncias quando equiparados aos demais. As sequências não classificadas (agrupadas neste trabalho como “Bacteria”) tiveram maior representatividade na área degradada nos tempos de incubação de 128 e 256 dias e uma abundância total de apenas 3%. Os filós que não obtiveram 1% de abundância total foram agrupados e classificados como “others” (Figura 21).

O táxon Proteobacteria não foi afetado significativamente quando aplicada uma ANOVA de duas vias entre as áreas de pastagens ($p=0,6814$). Entretanto, os tempos de incubação sofreram influência significativa ($0,000101$), apresentando comportamento crescente da abundância relativa no decorrer do tempo de incubação. Por outro lado, houve diferença significativa entre as áreas de pastagem ($p=0,03455$) e os tempos de incubação ($0,00974$) para o táxon Acidobacteria (Figura 21).

Os táxons Actinobacteria, Firmicutes e Verrucomicrobia apresentaram tendências similares nas áreas durante o período de incubação, e foi observado visualmente maior abundância relativa nos últimos tempos de incubação. Por fim, o táxon Bacteroidetes, apesar de não se diferenciar

significativamente entre as áreas ($p=0,08397$) e tempo ($p=0,1068$), apresentou maior abundância relativa nos tempos de incubação iniciais (Figura 21).

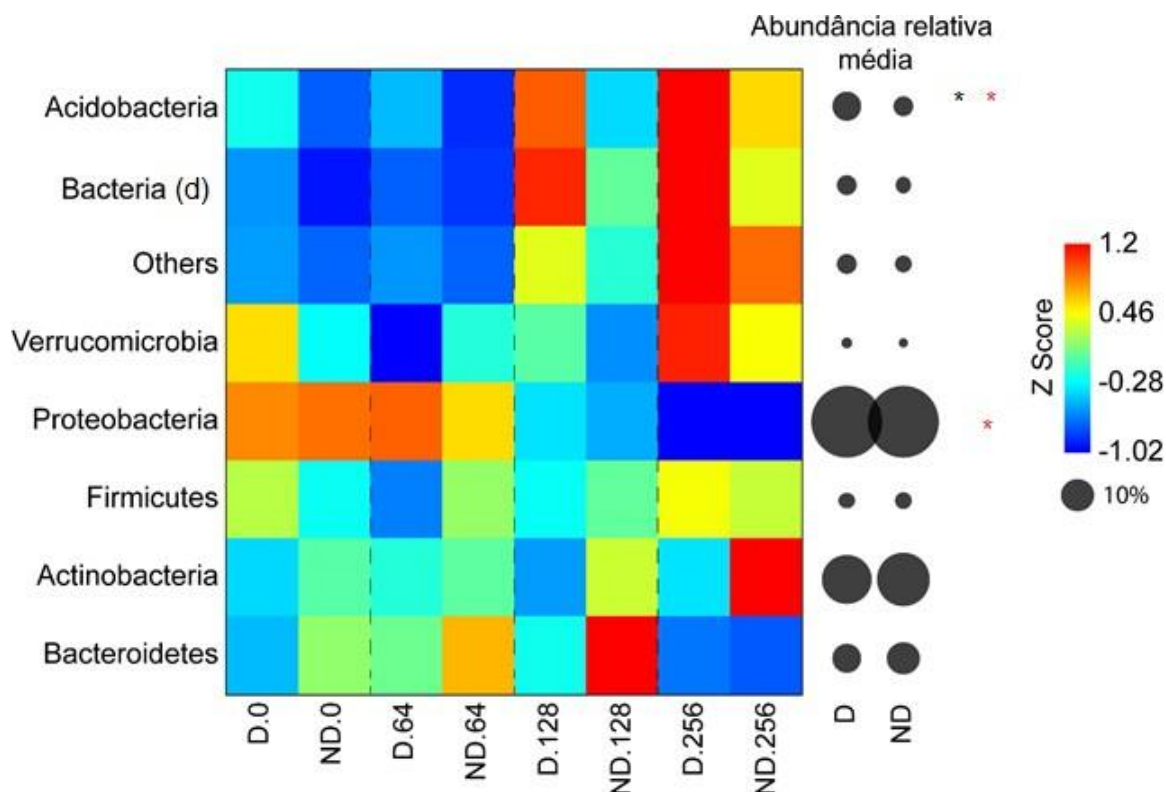


Figura 21. Abundância relativa média de filós de bactérias encontradas a partir do sequenciamento massivo do gene que codifica o 16S rRNA nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão dos dados a ANOVA de duas vias, a diferença estatística entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. O (d) ao lado do táxon "Bacteria" representa que a classificação desse dado foi a nível de domínio, não tendo sido avaliado por meio de análise estatística. Os dados representados por "others" e "unclassified" não foram avaliados estatisticamente por agrupar mais de um táxon.

A Figura 22 ilustra a abundância relativa da comunidade bacteriana a nível de ordem, em que foi possível observar 16 táxons compartilhados entre as áreas de pastagem degradada e não degradada, compondo 82% das sequências classificadas. Deste total, sete ordens pertencem ao filo Proteobacteria, duas ao filo Actinobacteria, duas ao filo Bacteroidetes e uma ao filo Firmicutes. Nove por cento foram compostos por táxons com abundância relativa inferior a 1% ("others"), enquanto apenas 8% das sequências não foram classificadas a nível de ordem ("unclassified").

Os táxons Actinomycetales, Rhizobiales, Burkholderiales,

Cytophagales e Enterobacteriales apresentaram abundância relativa elevada nos tempos iniciais de incubação nas áreas avaliadas. Ao submeter esses táxons à ANOVA de duas vias, observou-se diferença significativa entre as áreas de pastagens e tempos de incubação (Figura 22).

Por sua vez, os táxons Sphingomonadales ($p=0,0002044$), Sphingobacteriales ($p=0,005719$), Solirubrobacterales ($p=0,000004357$), Gp3 ($p=0,02555$) e Xanthomonadales ($p=0,002165$) foram afetados significativamente apenas pelo tempo de incubação. Os demais táxons encontrados não foram afetados significativamente (ANOVA de duas vias) (Figura 22).

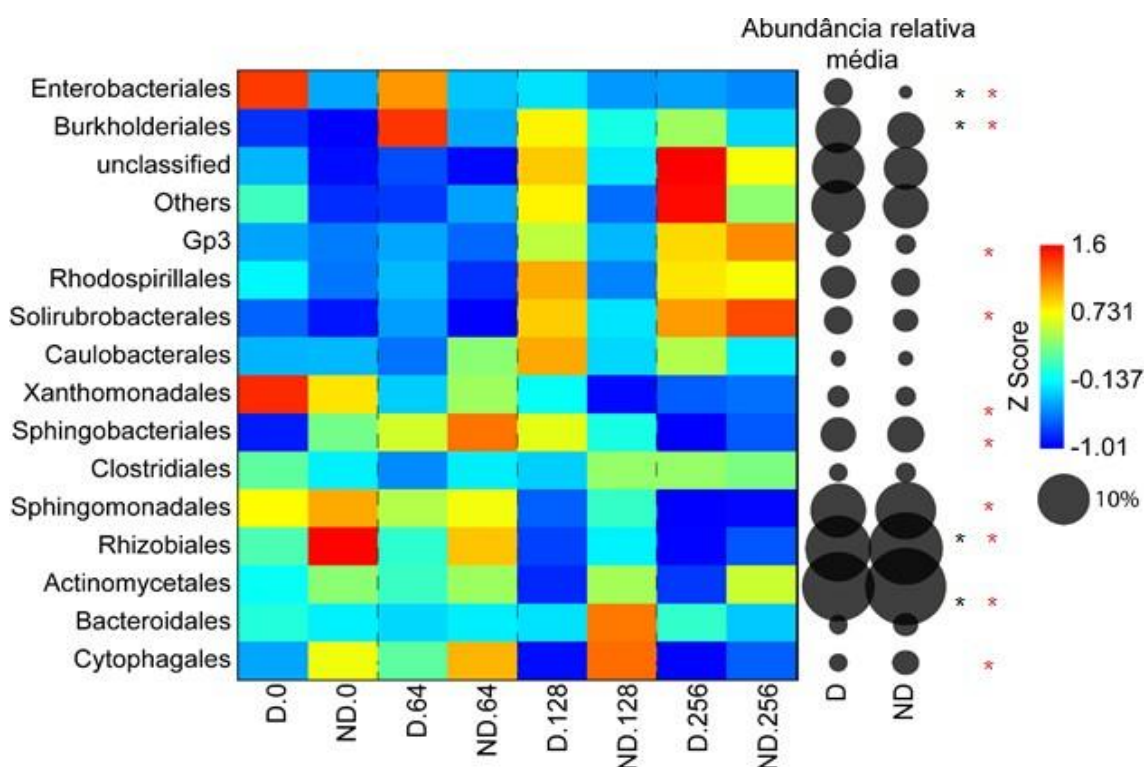


Figura 22. Abundância relativa média de ordem de bactérias encontradas a partir do sequenciamento massivo do gene que codifica o 16S rRNA, nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão dos dados a ANOVA de duas vias, a diferença estatística entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. Os dados representados por “others” e “unclassified” não foram avaliados estatisticamente por agrupar mais de um táxon.

A fim de melhor compreender a composição bacteriana da serapilheira de pastagens foi realizada a identificação taxonômica em nível de gênero. Quatorze táxons à nível de gênero da comunidade bacteriana foram compartilhados nas áreas de pastagens. Estes táxons apresentaram

aproximadamente 37% das sequências classificadas. Os táxons que não apresentaram 1% de abundância relativa foram classificados como “others” e obtiveram uma representatividade de 23%. Trinta e nove por cento das sequências não foram classificadas a nível de gênero (Figura 23).

Ao aplicar a ANOVA de duas vias observou-se que os táxons *Rhizobium*, *Conexibacter*, *Mycobacterium* e *Burkholderia*, foram afetados significativamente pelas áreas e tempos de incubação. O táxon *Nocardioiodes* apresentou diferença significativa entre as áreas avaliadas ($p=0,01999$), apresentando maior abundância relativa nos tempos iniciais da área não degradada, comportamento similar ao do gênero *Rhizobium* (Figura 23).

Por outro lado, *Sphingomonas* ($p=0,0002548$), *Methylobacterium* ($p=0,02958$), *Massilia* ($p=0,00005661$), *Curtobacterium* ($p=0,0000003068$), *Amnibacterium* ($p=0,01212$), *Mucilaginibacter* ($p=0,0001373$) foram impactados apenas pelos tempos de incubação, com maiores abundâncias nos tempos iniciais de incubação (Figura 23).

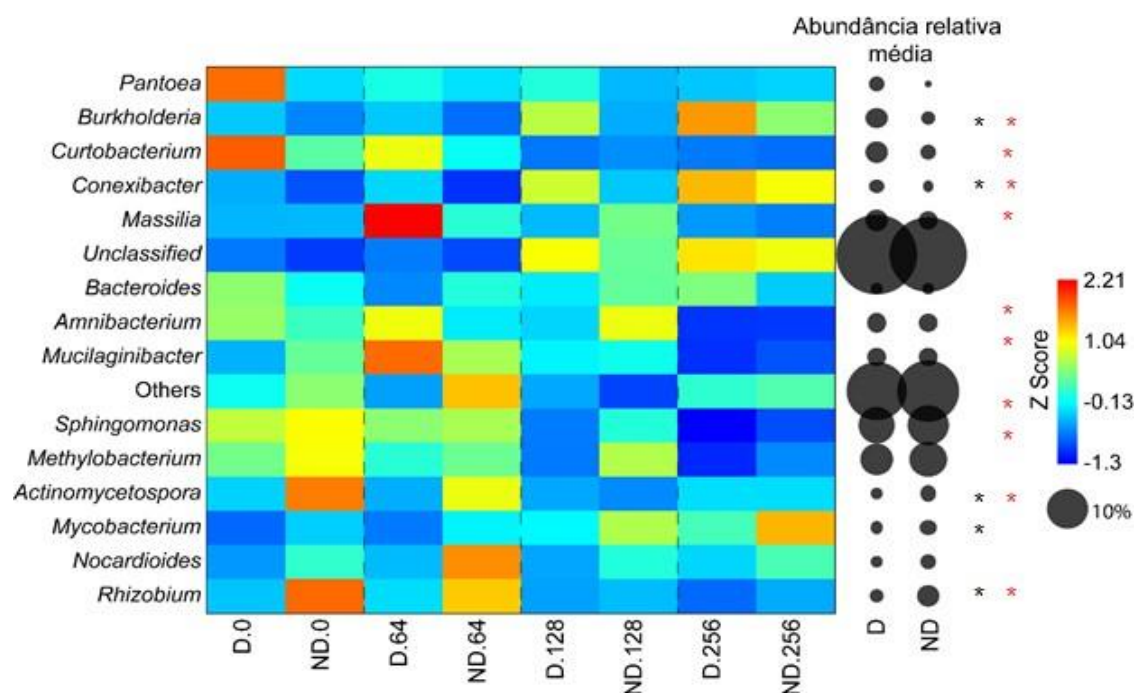


Figura 23. Abundância relativa média do gênero de bactérias encontradas a partir do sequenciamento massivo do gene que codifica o 16S rRNA, nas áreas não degradadas (ND) e degradadas (D), nos 4 tempos de incubação (0, 64, 128 e 256 dias). Após submissão dos dados a ANOVA de duas vias, a diferença estatística entre as áreas foi sinalizada por um asterisco preenchido pela cor preta, e a diferença estatística entre os tempos por um asterisco preenchido pela cor vermelha. Os dados representados por “others” e “unclassified” não foram avaliados estatisticamente por agrupar mais de um táxon.

8. DISCUSSÃO

O estudo da diversidade microbiana em amostras ambientais pode ser limitado em função da dificuldade de isolamento de diversos microrganismos (MORENO, 2013). Métodos de isolamento envolvem o cultivo, e devido à dificuldade de fornecer as condições encontradas em uma ampla variedade de ambientes naturais, técnicas de Biologia Molecular vêm sendo utilizadas para identificação e caracterização de populações microbianas (MORENO, 2013). Destaca-se que o desenvolvimento dos métodos moleculares foi impulsionado com o surgimento da técnica de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase), descrita por Saiki e aprimorada por Kary Mullis em 1984 (MORENO, 2013).

A PCR é uma técnica que permite à amplificação do DNA, *in vitro* e tem como princípio uma reação enzimática catalisada pela Taq DNA polimerase (COX et al., 2012). A PCR apresenta algumas variações, dentre as quais, se encontra a real-time PCR (qRT PCR), também conhecida como PCR quantitativo (qPCR), que se baseia na detecção e quantificação de compostos fluorescentes (fluorocromos), a exemplo de intercalantes como SYBR® Green ou sondas, como a TaqMan®, e difere da PCR convencional por monitorar o produto recém sintetizado ao final de cada ciclo (BUSTIN; MUELLER, 2005)

Observou-se a partir do qPCR de fungos e de bactérias que a comunidade bacteriana apresentou número de cópias superior à comunidade fúngica, nos tempos de incubação avaliados. Gavito et al. (2021) observaram que as bactérias dominam a comunidade microbiana na primeira fase do processo de decomposição consumindo os materiais lábeis; os fungos dominam depois, consumindo o material mais recalcitrante, principalmente em florestas sucessionais tardias e maduras onde a ausência de manejo e regeneração da vegetação aumentam os recursos para a atividade de espécies decompositoras.

No estudo realizado por Güsewell e Gessner (2009), em que foram avaliadas a dinâmica de nutrientes durante a decomposição de serapilheira e a abundância relativa de bactérias e fungos, verificou-se que as

bactérias proliferaram na fase rápida de decomposição e, que a comunidade fúngica aumentou quando os materiais lábeis foram consumidos. Além disso, foi observado que a decomposição de materiais recalcitrantes exigiu capacidades enzimáticas variadas e complexas encontradas apenas em fungos.

A riqueza de uma espécie é a contagem do número de espécies ou genótipos de uma determinada comunidade, e depende do tamanho da amostra, não considerando a abundância de cada espécie. O índice de diversidade considera tanto a riqueza de espécie quanto a abundância relativa (HOLT; MILLER, 2011). Avaliando os índices de alfa diversidade (diversidade e riqueza) da composição da comunidade bacteriana (a partir do gene que codifica o 16S rRNA) e fúngica (a partir do gene que codifica o ITS) não observaram diferenças significativas.

Contudo, existe o consenso de que a diversidade microbiana está diretamente relacionada a estabilidade do ecossistema (KENNEDY, 1999). Durante a degradação de restos vegetais atuam centenas de espécies de fungos e bactérias com diferentes níveis de especialização, e a perda de espécies-chave em etapas iniciais do processo de degradação da lignina e celulose, por exemplo, pode afetar negativamente o processo de decomposição como um todo (ZAK et al., 1994).

Mori et al., (2018) analisando o papel da diversidade, englobando a diversidade de fungos e bactérias alfa e beta em diferentes ecossistemas, constataram que os estudos sobre o funcionamento da alfa biodiversidade ainda não são suficientes para explicar o declínio e as mudanças que ocorrem nas comunidades, devido a dinâmica dos ecossistemas, ou a diversidade espaço-temporal decorrente. Mas, esses autores relatam a importância de uma perspectiva baseada na beta diversidade para maior entendimento do contexto da multifuncionalidade da comunidade microbiana.

Nesse sentido, Hautier et al. (2018) estudando a alfa (dentro das comunidades) e beta diversidade (na paisagem) da comunidade microbiana, em serapilheira de 65 pastagens em todo o mundo, relataram que as áreas são ricas em espécies (alfa diversidade) e as diferenças na composição da beta diversidade ocasionaram níveis elevados na funcionalidade da comunidade microbiana. Além disso, a alfa e beta diversidade afetaram sinergicamente a multifuncionalidade da comunidade. Por fim, a diversidade de plantas, tanto

em alfa quanto em beta diversidade, contribuem para a manutenção de vários serviços ecossistêmicos fornecidos pelas pastagens.

Rodrigues et al. (2013) observaram que o cultivo de pastagem composta por *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha* resultou em diversidade alfa inferior (número de unidades taxonômicas operacionais em um determinado habitat) quando comparado ao solo sob floresta. Resultados semelhantes foram encontrados por Mendes et al. (2015), onde o cultivo de pastagens em Latossolo do Sudeste da Amazônia resultou em menor diversidade bacteriana ao longo do tempo quando comparado a agricultura e a floresta nativa.

Uma análise da diversidade da serapilheira de carvalho (*Quercus faginea*) revelou que sua perda de massa está relacionada com a mudança na comunidade fúngica durante o processo de decomposição, sendo que a diversidade fúngica foi mais baixa no início do processo de degradação, atingiu o pico com 120 dias de incubação, e se estabilizou aos 240 dias de incubação (VOŮÍŠKOVÁ; BALDRIAN 2013).

Em relação à composição da comunidade fúngica, os filos Ascomycota e Basidiomycota destacaram-se em comparação aos demais filos presentes na serapilheira no período de incubação. Esses filos se diferem significativamente quanto a utilização de vias metabólicas para conversão de nutrientes em energia. Dependendo do tipo de nutriente disponível, certos grupos de microrganismos podem ser estimulados, enquanto outros são restringidos.

O filo Ascomycota, considerado o maior filo entre os fungos (KIRK et al., 2001), apresentou tendência similar nas áreas avaliadas. Além disso, a diferenciação deste filo foi acentuada, com alta abundância relativa nos tempos iniciais de incubação, ou seja, até 64 dias para ambas as áreas, sugerindo que esse táxon apresenta grande capacidade de sobreviver em diferentes condições, colonizando rapidamente o ambiente nos estágios iniciais da decomposição (SEIFERT et al., 2011, PROMPUTTHA et al., 2017, MONTEIRO et al., 2019). Além disso, o comportamento deste filo pode indicar um padrão de sucessão microbiana.

Portanto, além de manter a produtividade e de nutrir os solos, o filo Ascomycota facilita a colonização da matéria orgânica por outros grupos

de microrganismos através de sua transformação e da formação de moléculas de mais fácil degradação por outros grupos (CANTO et al., 2020).

Por outro lado, o filo Basidiomycota apresentou diferenças nas áreas e nos tempos de incubação. Nos tempos posteriores aos 64 dias observou-se aumento significativo deste filo devido a capacidade de decompor substratos recalcitrantes, como lignina e substâncias húmicas, tornando-se dominantes na comunidade (GESSNER et al., 2010). Resultados similares foram encontrados por Unterseher et al. (2013), avaliando o nível de sobreposição de comunidades fúngicas cultiváveis em tecidos vivos e em decomposição de faia (*Fagus sylvatica* L.), em um povoamento florestal no nordeste da Alemanha. Foi observado que a comunidade inicial de fungos decompositores é dominada por fungos do filo Ascomycota típicos da filosfera. Após 284 dias de incubação, a serapilheira em decomposição foi dominada pelo filo Basidiomycota, capaz de decompor substratos recalcitrantes.

Osono (2020) realizou um estudo com dados de 1.232 testes individuais de cultura pura, conduzidos sob protocolos padronizados para examinar a diversidade de fungos associados à decomposição de serapilheira, com destaque para a atividade ligninolítica. E, observou que os valores médios de perda de massa variaram de -2,5 a 11,8% para 33 famílias de Ascomycota e de -0,1 a 37,4% para 31 famílias de Basidiomycota. A partir desses resultados foi possível concluir que o filo Basidiomycota tem maior capacidade de causar perda de massa quando relacionado a compostos recalcitrantes do que Ascomycota.

No que se refere a comunidade bacteriana a nível de filo, nas áreas de pastagens monitoradas, os táxons mais abundantes foram encontrados em amostras de folhas e raízes (BODENHAUSEN et al., 2013), sendo eles Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes e Acidobacteria.

O filo Proteobacteria apresentou a maior abundância relativa nas áreas, em comparação aos demais filios de bactérias. Observou-se maior abundância relativa com 256 dias de incubação nas áreas avaliadas. Diversos outros trabalhos também encontraram esse filo como o mais abundante em comunidades bacterianas (JANSSEN, 2006; BULGADERI et al., 2013), compreendendo organismos diversos com capacidade de fixar nitrogênio atmosférico e desenvolver funções essenciais nos ciclos do C, N e S (ROESCH,

2007).

Santaren (2021), estudando a comunidade bacteriana do solo nas mesmas áreas de pastagens do presente estudo, observou maior abundância relativa para os filos Proteobacteria, Actinobacteria e Bacteroidetes. Estes resultados corroboram com os encontrados no presente estudo, em que os mesmos filos foram os mais abundantes na serapilheira em todos os tempos de incubação. No estudo anteriormente citado foi observada maior abundância relativa na área não degradada, cujo teor de C no solo foi superior ao da área degradada. Lienhard et al. (2014), avaliando a comunidade bacteriana em áreas sob diferentes manejos, relatou o aumento de Proteobacteria em áreas com alto teor de C. Por fim, um solo com teor elevado de matéria orgânica tende a manter a população microbiana mais estável ao longo do ano, provavelmente em decorrência da riqueza de nichos ecológicos, pela heterogeneidade das fontes de carbono (GRAYSTON et al., 2001)

Actinobacteria é um filo que se destaca em estudos relacionados à degradação de ecossistemas, visto que são essenciais para a manutenção do solo e para o desenvolvimento vegetal (BHATTI et al., 2017), principalmente por responder as variações ambientais e sobreviver em condições de estresse (NAYLOR et al., 2017).

A presença acentuada de Actinobacteria, principalmente nos últimos tempos de incubação, pode indicar um desequilíbrio em relação a outros filos de bactérias, em função das flutuações hídricas e térmicas (Figura 1) que ocorreram, influenciando em maior grau sua atividade e taxa de crescimento. Tal abundância, portanto, baseia-se na capacidade desses seres se desenvolverem em variados habitats (RANJARD et al., 2016).

Por fim, o filo Firmicutes apresentou abundância relativa considerável nas áreas. Este filo é conhecido por contemplar bactérias de alta resistência a condições ambientais desfavoráveis, e por isso são bons indicadores ambientais, aumentando proporcionalmente em solos compactados (HARTMANN et al., 2014; PINDI et al., 2014). Valle (2018), avaliando as características físicas nas mesmas áreas do presente estudo, observou valores maiores de densidade de partículas, tanto em superfície ($D_p = 2,60 \text{ kg dm}^{-3}$) quanto em subsuperfície ($D_p = 2,64 \text{ kg dm}^{-3}$) nas áreas de pastagem degradada quando comparada à pastagem não degradada. Este

fator físico pode estar relacionado à abundância de Firmicutes encontrada no material vegetal em decomposição das áreas de pastagens.

Redford et al., (2010), estudando as comunidades bacterianas da filosfera de 56 espécies de árvores em Boulder, Colorado, EUA, encontraram 25 diferentes filos bacterianos nas amostras. Os grupos mais abundantes foram os Proteobacteria (48,8%), Bacteroidetes (22,5%) Actinobacteria (9,0%), TM7 (9,0%) e Firmicutes (5,3%). A ordem mais comum das bactérias na filosfera foi Sphingobacteriales da classe Bacteroidetes, representando 21,3% de todas as sequências (REDFORD et al., 2010).

Santalanti et al., (2018), avaliando as alterações causadas pelo pastoreio de renas na comunidade fúngica do solo, por meio da taxa de decomposição de serapilheira e das atividades de enzimas extracelulares que degradam a serapilheira, observaram que Basidiomycota foi o filo mais abundante em todas as áreas pastoreadas e não pastoreadas, com uma média de 60,3%. O segundo filo mais abundante foi Ascomycota com 20,2%, sendo este o único filo a apresentar diferença significativa para pastejo ($P \leq 0,05$) e área ($P \leq 0,001$). O filo Chytridiomycota cobriu 13,5% e o antigo filo de Zygomycota cobriu 3,7%. Portanto, os resultados deste trabalho indicaram que o pastoreio de renas altera a estrutura da comunidade fúngica e as atividades enzimáticas relacionadas à degradação da serapilheira nos solos da floresta boreal do Norte. Apesar deste trabalho não ter avaliado o pastoreio dos animais, foi possível observar que o filo Basidiomycota apresentou diferença significativa entre as áreas estudadas. Vale ressaltar que as áreas apresentam distintos manejos dos animais, podendo ser este também um fator de alteração da comunidade de Basidiomycota.

Urbanová et al. (2015) avaliaram a comunidade bacteriana do solo e da serapilheira associada a sete espécies arbóreas de uma floresta na República Checa, através da região V4-V6 do gene rRNA 16S, e verificaram que a comunidade bacteriana é mais diversa na serapilheira do que no solo. Os filos mais frequentes na serapilheira foram Proteobacteria (58,9%), seguido de Actinobacteria (13,8%), Bacteroidetes (13,8%) e Acidobacteria (6,0%). A maioria das UTOs de Proteobacteria pertenciam a Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria e Betaproteobacteria. Os gêneros mais comuns foram: *Sphingomonas*, *Erwinia*, *Mucilaginibacter*, *Burkholderia* e

Pedobacter.

Entre essas ordens fúngicas identificadas, a ordem Polyporales destacou-se por apresentar a maior abundância relativa na área degradada. Essa ordem pertence ao Filo Basidiomycota, demonstrando preferência por material vegetal lenhoso, ou seja, crescem e se desenvolvem em troncos de árvores e potencializam a decomposição de serapilheira devido ao seu metabolismo. Por fim, é considerada a maior ordem de sua classe, possuindo espécies que habitam vários substratos. Podem ser encontradas como epífitas, endófitas, parasitas de plantas, fungos e insetos, liquenizadas, sapróbias (ZHANG et al., 2012), ou ainda em fontes hidrotermais (PANG et al., 2019).

O estudo de Vale (2018) identificou que a área degradada apresentou mudança na sua composição botânica e, que a origem da matéria orgânica nesta área foi explicada pela presença de plantas daninhas. Portanto, a presença desta ordem na área degradada em todos os períodos de incubação pode estar relacionada à preferência por material vegetal recalcitrante e por se adaptar a variações de pH e baixa fertilidade.

Espécies da ordem Capnodiales foram encontradas associadas a rochas, como patógenos de plantas e humanos, epífitas, sapróbias, endófitas em plantas de desertos quentes, em águas hipersalinas e espécies liquenizadas (ABDOLLAHZADEH et al., 2020).

Voříšková e Baldrian (2013), explorando o desenvolvimento da comunidade fúngica ao longo de 24 meses de decomposição da serapilheira em uma floresta temperada com *Quercus petraea*, observaram que as ordens de fungos mais abundantes após 8 meses de decomposição foram Capnodiales (22% das sequências), Helotiales (20%) e Tremellales (12%). Isso evidencia a afinidade da ordem por material vegetal mais recalcitrante. De forma similar, neste trabalho observou-se a presença acentuada desta ordem com 64 dias (aproximadamente 2 meses), com a serapilheira na fase 2 de decomposição. Além disso, observou-se que a ordem Capnodiales apresentou maior abundância relativa na área não degradada, enfatizando que a matéria orgânica do solo influencia na estrutura desta comunidade.

Detheridge et al. (2020) verificaram que a abundância de Capnodiales estava intimamente ligada a fatores do solo, principalmente ao seu

conteúdo orgânico. Sendo assim, pH e qualidade da matéria orgânica impulsionam a presença da comunidade ordem na decomposição da serapilheira (ROUSK et al., 2010; DELGADO-BAQUERIZO et al., 2018).

De todas as espécies que ocorrem no Filo Basidiomycota, 33,5% estão incluídas na ordem Agaricales, representantes importantes por serem fungos comestíveis, alucinógenos, medicinais, micorrízicos e sapróbios, e principalmente por desempenharem papel fundamental na ciclagem de nutrientes (KIRK et al., 2008). Na área ambiental, têm sido empregados na descontaminação de ambientes terrestres e aquáticos devido a sua capacidade de degradação de algumas substâncias tóxicas ao meio ambiente (BONONI, 1998).

Segundo Lundell et al. (2014), os microrganismos que compõem a ordem Agaricales são capazes de decompor não apenas celulose e hemicelulose, mas também polímeros de lignina recalcitrantes. Essa ordem teve comportamento similar em todos os tempos de incubação avaliados neste trabalho. Entretanto, diferenciou-se entre as áreas, evidenciando que o material vegetal da área de pastagem degradada foi influenciado pela microbiota de sapróbios que estavam presentes no solo decompondo o material vegetal das plantas daninhas, considerados recalcitrantes.

Actinomycetales é uma ordem bacteriana que compreende microrganismos ativos sob pastagens e podem ser dominantes nas camadas superficiais ricas em palhadas. Decompõem a matéria orgânica mais recalcitrante e são responsáveis pela posterior decomposição do húmus (material resistente) no solo (BHATTI et al., 2017). As bactérias desta ordem melhoram a disponibilidade de nutrientes e minerais para o solo, regulam o crescimento de plantas e, principalmente, são capazes de inibir fitopatógenos (JOSÉ et al., 2016).

Em geral, a influência da rizosfera sobre as populações de Actinomycetes é menor do que sobre as populações das demais bactérias e sobre as populações fúngicas, visto que, são microrganismos de crescimento lento, com baixa capacidade competitiva. Dessa maneira, não conseguem predominar em substratos orgânicos nos quais outros microrganismos apresentam capacidade de colonização mais elevada (GOTTLIEB; SIMINOFF, 1952; WATSON; WILLIAMS, 1974; PEREIRA, et al., 1999).

Actinomycetes formam associações com algumas plantas não leguminosas e fixam N, que fica então disponível tanto para a planta hospedeira quanto para outras plantas próximas. O ciclo natural do nitrogênio depende de bactérias fixadoras de nitrogênio, como as encontradas na família *Frankia* de actinobactérias, para fornecer o nitrogênio fixado (BHATTI et al., 2017).

Assim como neste estudo, outros também encontraram maior abundância da ordem de bactérias Burkholderiales, onde, a presença de raízes de plantas aumenta a sua abundância (AGUIRRE-VON-WOBESER et al., 2018; PEIFFER et al., 2013). As bactérias pertencentes a esta ordem têm sido estudadas para sua aplicação em agrobiotecnologia para supressão de patógenos e para avaliar o seu potencial de fixação de nitrogênio em gramíneas, incluindo espécies relevantes para a agropecuária (BENÍTES et al., 2008; PEDROSA et al., 2011).

A ordem Solirubrobacterales foi uma das mais abundantes no presente estudo, e também foi mais abundante em um solo de cultivo de cana-de-açúcar, planta com metabolismo C4 igual às gramíneas (OGOLA et al., 2021). Esta ordem de bactéria tem a capacidade de produzir uma variedade de enzimas hidrolíticas extracelulares que podem degradar polímeros vegetais, incluindo lignina, celulose e outros compostos orgânicos (EISENLORD; ZAK, 2010). As bactérias desta ordem contribuem significativamente para a degradação de lignina, podendo ocorrer em todo perfil de solo, principalmente em áreas florestais e em culturas com maior quantidade de lignina nos resíduos vegetais (maior razão C:N) (WILHELM et al., 2019).

A comunidade microbiana e a diversidade do solo são altamente dependentes da topografia local, visto que os gradientes topográficos/geomorfológicos afetam as características do solo, o tipo de vegetação, que indiretamente direciona a estrutura da comunidade bacteriana. Os solos arenosos e altamente lixiviados, com baixo teor de nutrientes orgânicos (C e N) e baixa densidade de plantas são correlacionados com a redução da abundância taxonômica bacteriana (OGOLA et al., 2021).

A ordem bacteriana Rhizobiales é uma das mais abundantes na natureza. Esta ordem está envolvida em interações simbióticas realizando a fixação do nitrogênio atmosférico com leguminosas principalmente, e em menor proporção com algumas plantas não leguminosas (GARRIDO-OTER et al.,

2018).

Em sistemas silvipastoris no Chile, a ordem de bactéria mais dominante foi a ordem Rhizobiales, onde o sistema mais espaçado apresentou a maior diversidade de microrganismos, e foi o que também promoveu maior produção específica da forrageira (NEIRA et al., 2021). Neste trabalho foi encontrado principalmente bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, uma bactéria gram-negativa fixadora de nitrogênio, que pertence ao grupo de rizobactérias promotoras de crescimento, que induzem efeitos benéficos ao crescimento das plantas, como o crescimento radicular de algumas gramíneas (NEIRA et al., 2021).

Observou-se que o gênero *Rhizobium*, classificado como bactérias da filosfera (PURAHONG et al., 2015), apresentou maior abundância relativa na área não degradada. Esse gênero persistiu com abundância relativa representativa durante todo o processo de decomposição, o que é consistente com estudos que relataram a persistência em abundâncias relativamente altas durante os estágios iniciais de decomposição da serapilheira e sua habilidade para usar alguns substratos complexos ou para fixar nitrogênio (AISLABIE et al., 2006; BERNHARD, 2010).

Apesar da semelhança entre as áreas estudadas em determinadas características (como pH e teor de argila), o C, o N e o P foram significativamente maiores na área não degradada (SANTAREN, 2021). A presença do gênero *Rizobium* pode ter contribuído para melhorar a disponibilidade de N, que de outra forma tenderia a diminuir durante o processo de decomposição, uma vez que não existe o hábito de realizar manejo do solo e da pastagem na região.

Os gêneros *Burkholderia* e *Rizobium* abrigam muitos fixadores de nitrogênio associados a plantas, apresentando uma ampla distribuição ambiental e geográfica (SANTOS et al., 2001), e tem sido amplamente pesquisado por seu potencial como bactéria promotora de crescimento vegetal. Cepas de *Rhizobium* e *Burkholderia*, isoladas de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia, também se mostraram capazes de sintetizar AIA (ácido indolacético) (10 a 38 µg de AIA mL⁻¹), quando cultivadas em meio suplementado com L-triptofano (LONGATTI et al., 2013).

Também foi possível observar a presença do gênero

Burkholderia nas áreas avaliadas. Štursová et al., (2012), avaliando o efeito comunidade microbiana e seu potencial na decomposição de celulose em serapilheira de *Picea abies*, encontraram maior abundância bacteriana para os gêneros *Herminiimonas*, *Mucilaginibacter*, *Citófago*, *Pedobactéria*, *Burkholderia*, *Acidobacterium* e *Streptacidiphilus*. Os autores observaram que a capacidade celulolítica é limitada a alguns táxons bacterianos, embora filogeneticamente diversos (LYND et al., 2002), uma vez que apenas o gênero *Burkholderia*, decompositor de celulose, foi abundantemente encontrado. Contudo, a baixa frequência das comunidades celulolíticas pode ser explicada pelo baixo pH do solo da floresta (LAUBER et al., 2009). O presente trabalho não avaliou especificamente a degradação de celulose por bactérias, mas observou-se baixa abundância de bactérias com essa especificidade. Por fim, a tendência destes resultados pode estar relacionada com o baixo pH das áreas avaliadas (VALLE, 2018).

Observando os gêneros que abrangeram as comunidades bacterianas encontradas nesse trabalho, *Sphingomonas*, conhecido por produzir enzimas proteolíticas ou celulolíticas (AISLABIE et al., 2006) e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos de enxofre e 2-metilfenantreno (NIMATUZAHROH et al., 1999), com maior abundância relativa e dominante nos últimos tempos de incubação, corrobora com o resultado encontrado por Bernhard (2010), que relata a habilidade desse gênero para decompor substratos complexos. Ademais, este padrão é consistente com o estudo baseado em culturas de sucessão bacteriana na serapilheira de amieiro preto (*Frangula alnus* Mill) (DILLY; RMLER 1998).

Diante dos estudos apresentados, foi possível compreender as dinâmicas que envolvem a decomposição da serapilheira e a diversidade e composição da comunidade fúngica e bacteriana. As áreas de pastagem apresentaram características físico-químicas congêneres. Portanto, a composição da comunidade microbiana possivelmente foi impactada pelo teor de matéria orgânica e pela composição da serapilheira. Embora o presente estudo tenha ajudado a compreender a ligação entre as comunidades fúngica e bacteriana na dinâmica de decomposição da serapilheira de pastagem a nível de filo e ordem, mais pesquisas devem se concentrar na resposta da importância e funções dos gêneros de fungos na decomposição deste material.

Assim, o manejo adequado da pastagem e do solo podem promover maior abundância de microrganismos responsáveis pela ciclagem de nutrientes por meio da decomposição da serapilheira, com maior produtividade e conservação do solo.

9. CONCLUSÕES

A comunidade fúngica, composta por fungos saprotróficos, dominou a serapilheira em decomposição nas áreas avaliadas, e, sendo assim, os fungos destacam-se como os mais importantes decompositores do material vegetal, por possuírem um sistema enzimático capaz de degradar substâncias complexas.

A comunidade bacteriana influenciou as fases de decomposição da serapilheira e apresentou número de cópias superior a comunidade fúngica durante o período de 256 dias de avaliação.

Os índices de diversidade e riqueza da composição da comunidade bacteriana e fúngica não apresentaram diferenças entre a área degradada e não degradada.

Os filos Ascomycota e Basidiomycota, pertencentes à comunidade fúngica, destacaram-se em relação aos demais táxons de filos classificados.

A composição da comunidade bacteriana na serapilheira foi dominada pelo filo Proteobacteria. Mas, os filos Actinobacteria, Bacteroidetes e Acidobacteria também foram encontrados na serapilheira em decomposição.

A abundância relativa, de uma quantidade expressiva dos microrganismos da comunidade fúngica e bacteriana a nível de filo, ordem e gênero foi superior na área não degradada.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma das grandes marcas das pastagens tropicais e subtropicais em todo o planeta tem sido a baixa fertilidade natural dos solos. Este problema associado aos altos custos dos fertilizantes químicos, e ao cultivo de pastagens em áreas marginais resulta na degradação destas. Por sua vez, esta degradação tem se mostrado cada vez mais frequente, inclusive no Brasil, reduzindo drasticamente a produtividade das pastagens.

A serapilheira das plantas é o principal responsável pela formação da matéria orgânica do solo nos sistemas agropecuários. Nesses sistemas, a comunidade microbiana desempenha um papel chave na decomposição da serapilheira. Poucas variações foram observadas e, a comunidade microbiana apresentou alterações, possivelmente, em resposta a diferentes fontes de carbono que compõem a serapilheira. A qualidade da serapilheira é de grande importância na composição da microbiota do solo. Diferentes relações C/N, teores de lignina, dentre outros, irão interferir significativamente nessa composição, pois cada material será preferencialmente decomposto por um grupo específico de fungos e bactérias.

Estágios iniciais da decomposição da serapilheira são caracterizados pela baixa diversidade de microrganismos, uniformes em seu comportamento e em sua resposta ao ambiente. À medida que a decomposição prossegue, a população microbiana se torna mais heterogênea, particularmente entre as bactérias, representadas por poucas espécies no começo, mas por uma maior diversidade nos estágios de decomposição mais avançados. Ainda neste contexto, ressalta-se que a natureza e a quantidade do material depositado, temperatura, umidade, pH influenciam diretamente a atividade da comunidade microbiana, refletindo na variação das taxas de decomposição.

Ademais, com o avanço recente no sequenciamento de DNA, bioinformática e microscopia avançada, pesquisadores podem desvendar o ainda desconhecido ecossistema solo - material vegetal, e, posteriormente, criar um modelo de ocorrência e abundância de microrganismos. Para isto, se torna necessário conectar informações geográficas e climáticas com as características físicas e químicas do solo e com os microrganismos.

Portanto, os princípios e benefícios, citados e observados no presente estudo, pela dinâmica da serapilheira devem ser aplicados para que ocorra o desenvolvimento e manutenção de uma pecuária sustentável. Para isso, além da conservação das pastagens, é necessário adotar intensa reciclagem de resíduos e formas adequadas de manejo do solo, pastagem e animal. Lembrando que as abordagens para recuperação de pastagens degradadas exigem necessariamente diagnóstico prévio do nível de degradação e adoção de práticas adequadas ao nível tecnológico local.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE-VON-WOBESER, E.; ROCHA-ESTRADA, J.; Shapiro, L. R.; TORRE, M. (2018). Enrichment of Verrucomicrobia, Actinobacteria and Burkholderiales drives selection of bacterial community from soil by maize roots in a traditional milpa agroecosystem. **Plos One**, 13(12), e0208852. doi:10.1371/journal.pone.0208852.
- AISLABIE J. M.; BROADY P.A.; SAUL D.J. Culturable aerobic heterotrophic bacteria from high altitude, high latitude soil of La Gorce Mountains (86°30'S, 147°W), Antarctica. **Antarctic Science**, v.18, n.3, p.313-321, 2006.
- ALTIERI, M. A. Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável. **Guaíba: Editora Agropecuária**, 2002.
- ALVARES, C. A.; STAPE, L.J.; SENTELHAS, C.P.; MORAES, G.L.J.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- ALVES, A.R.; SOUTO, J.S.; SOUTO, P.C. Aporte e decomposição de serrapilheira em área de caatinga, na Paraíba. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n.2, p.194-203, 2006.
- ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 2, p. 1191-1198, 2004.
- ARATO, H. D.; MARTINS, S. V.; FERRARI, S. H. S. Produção e decomposição de serapilheira em um Sistema Agroflorestal implantado para recuperação de área degradada em Viçosa-MG. **Revista Árvore**, v.27, n.5, p.715-721, 2003.
- AUER, C. G.; AMARO, T.; PIMENTEL, I. C.; ROCIO, P. Atividades degradativas de celulose e de fenóis por fungos isolados de acículas de Pinus taeda. **Floresta**, v. 44, n. 2, p. 179-184, 2014.
- BAKKER, M. A.; CARREÑO-ROCABADO, G.; POORTER, L. Leaf economics traits predict litter decomposition of tropical plants and differ among land use types. **Functional Ecology**, v.25, p.473–483, 2011.
- BALDEZ, F. Dinâmica populacional da microbiota associada a decomposição da serapilheira de duas espécies arbóreas da Mata Atlântica. **Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada)**. Instituto de Biologia, Departamento de Entomologia e Fitopatologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 66.p, 2018.
- BALVANERA P, PFISTERER AB, BUCHMANN N, He JS, NAKASHIZUKA T, RAFFAELLI D, SCHMID B. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. **Ecol Lett**, v.10, p.1146-1156, 2006.

BARNARD, R. L.; OSBORNE, C. A.; FIRESTONE, M. K. Responses of soil bacterial and fungal communities to extreme desiccation and rewetting. **The ISME J.**, v. 7, n. 11, p. 2229, 2013.

BASSO, T. P.; GALLO, C. R.; BASSO, L. C. Atividade celulolítica de fungos isolados de bagaço de cana-de-açúcar e madeira em decomposição. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 11, p. 1282-1289, 2011.

BDOLLAHZADEH, J.; GROENEWALD, J. Z.; COETZEE, M. P. A.; WINGFIELD, M. J.; CROUS, P.W. Evolution of lifestyles in Capnoidiales. **Studies in Mycology**, 2020.

BENITEZ, M.S.; MCSPADDEN G.B.B. Linking Sequence to Function in Soil Bacteria: Sequence-Directed Isolation of Novel Bacteria Contributing to Soilborne Plant Disease Suppression. **Applied and Environmental Microbiology**, v.75. n.4, p.915–924, 2008.

BERG, B. Litter decomposition and organic matter turnover in northern forest soils. **Forest Ecology and Management**, v.133, n.1, p.13-22, 2000.

BERG, B.; MC CLOUGHERTY, C. Plant litter: Decomposition, humus formation, carbon sequestration. **Springer**, Berlin, p. 53-83, 2008.

BERLEMONT, R.; ALISSON, S. D.; WEHE, C.; LU, Y.; BRODIE. E. L.; MARTINY, J. B.; MARTINY, A. C. Cellulolytic potential under environmental changes in microbial communities from grassland litter. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 639, 2014.

BERNHARD A. The Nitrogen Cycle: Processes, Players, and Human Impact. **Nature Education Knowledge**. v.3, n.10 p.25, 2010.

BHATTI, A. A.; HAQ, S.; BHAT, R. A. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. **Microbial Pathogenesis**, v.111, p.458–467, 2017.

BIANCHIN, J. E.; MARQUES, R.; BRITZ, R.M.; CAPRETZ, R. L. Deposição de fitomassa em formações secundárias na Floresta Atlântica do Paraná. **Floresta e Ambiente**, v. 23, n. 4, p. 524-533, 2016.

BIJAYALAXMI, N.; YADAVA, D. P. S. Influence of climate and litter quality on litter decomposition and nu-trient release in sub-tropicalforest of Northeast India. *Journal of Forestry Research*, n. 21, v. 2, p.143–150, 2010.

BISHOP, A.; FIELDING, S.; DYSON, P.; HERRON, P. Systematic insertional mutagenesis of a streptomycete genome: a link between osmoadaptation and antibiotic production. **Genome Research**, v. 14, n. 5, p. 893-900, 2004.

BODENHAUSEN N.; HORTON M.W.; BERGELSON J. Bacterial communities associated with the leaves and the roots of *Arabidopsis thaliana*. **Plos One**, v,8, 2013.

BOER W.; FOLMAN L.B.; SUMMERBELL R.C.; BODDY L. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. **FEMS microbiology reviews**, v.29, p.795–811, 2005.

BONONI, V. L. R.; GRANDI, R. A. P. Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas. **São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente**, 1998. 181p.

BONONI, V. L. R.; OLIVEIRA, A. K. M.; QUEVEDO, J. R.; GUGLIOTTA, A. M. Asco e basidiomicetos macroscópicos do Pantanal do Rio Negro, MS. In: 58 Congresso Nacional de Botânica, 2007, São Paulo. A Botânica no Brasil: pesquisa, ensino e políticas públicas. **São Paulo: Sociedade Botânica do Brasil**, 2007. v. 1. p. 1-680.

BONONI, V.L. (org.) Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas. São Paulo: **Instituto de Botânica**, 1998.

BOUSKILL, N. J.; LIM, H. C.; BORGLIN, S.; SALVE, R.; WOOD, T. E.; SILVER, W. L.; BRODIE, E. L. Pre-exposure to drought increases the resistance of tropical forest soil bacterial communities to extended drought. **The ISME journal**, v. 7, n. 2, p. 384, 2013.

BOUSKILL, N. J.; WOOD, T. E.; BARAN, R.; YE, Z.; BOWEN, B. P.; LIM, H.; ZHOU, J.; NOSTRAND, J.; NICO, P.; NORTHEN, SILVER, W. L.; BRODIE, E. Belowground response to drought in a tropical forest soil. I. Changes in microbial functional potential and metabolism. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 525, 2016.

BRUNS, T. D.; WHITE, T. J.; TAYLOR, J. W. Fungal molecular systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v.22, p.525-564, 1991.

BULGADERI, D.; SCHLAEPPI, K.; SPAEPEN, S.; THEMAAT E. V. L.; SCHULZE-LEFERT, P. Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants. **Annual Reviews of Plant Biology**, v.64, p.807-838, 2013.

BUSTIN, S.; MUELLER, R. Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and its potential use in clinical diagnosis. **Clinical Science, London**, v. 109, p. 365-379, 2005.

CANTARUTTI, R.B. Dinâmica de nitrogênio em pastagens de *Brachiaria humidicola* em monocultivo e consorciada com *Desmodium ovalifolium* Cv. Itabela no sul da Bahia. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1996. p.83. **Dissertação** (Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, 1996.

CARDINALE, B.J.; DUFFY, J.E.; GONZALEZ, A.; HOOPER, D.U.; PERRINGS, C.; VENAIL, P.; NARWANI, A.; MACE, G.M.; TILMAN, D.; WARDLE, D.A.; KINZIG, A.P.; DAILY, G.C.; LOREAU, M.; GRACE, J.B.; LARIGAUDERIE, A.;

SRIVASTAVA, D.S.; NAEEM, S. Biodiversity loss and its impact on humanity. **Nature**, v.486, p.59-67, 2012.

CARDINALE, B.J.; MATULICH, K.L.; HOPPER, D.U.; BYRNES, J.E.; DUFFY, E.; GAMFELDT, L.; BALVANERA, P.; O'CONNOR, M.I.; GONZALEZ, A. The functional role of producer diversity in ecosystems. **Am J Bot.** v.98, p.572 – 592, 2011.

CARLILE, M. J.; WATKINSON, S. C. The fungi. Londres: **Academic Press**, 500p, 1994.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. Prog. **Polym. Scie.**, v.23, p.1273-1335, 1998.

CHAPIN III, F. S.; MATSON, P. A.; MOONEY, H. A. Principles of terrestrial ecosystem ecology. **New York: Springer**, 2002.

COSTA, P. M. O.; SOUZA-MOTTA, C. M.; MALOSSO, E. Diversity of filamentous fungi in different systems of land use. **Agroforestry Systems**, v.85, n.1, p.195-203, 2012.

CRESPO, G. Factors influencing on nutrient recycling in permanent grasslands and development of their modeling. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 49, n.1, p. 110-121, 2015.

CROWTHER, T. W.; MAYNARD, D. S.; LEFF, J. W.; OLDFIELD, E. E.; MC CULLEY, R. L.; FIERER, N.; BRADFORD, M. A. Predicting the responsiveness of soil biodiversity to deforestation: a cross-biome study. *Global change biology*, v. 20, n. 9, p. 2983-2994, 2014.

CUER, C.A.; RODRIGUES, R.A.R.; BALIEIRO, F.C.; JESUS, J.; SILVA, E.P.; ALVES, B.J.; Rachid, C.T.C.C. Short-term effect of Eucalyptus plantations on soil microbial communities and soil-atmosphere methane and nitrous oxide Exchange. **Scientific Reports** v.8, p.1-12, 2018.

DANTAS, M. E. **Geomorfologia do Estado do Rio de Janeiro: estudo geoambiental do Estado do Rio de Janeiro**, 2000. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/publique/Gestao-Territorial/Geodiversidade/Projeto-Rio-de-Janeiro-3498.html>. Acesso em: 20 ago.2020.

DELGADO-BAQUERIZO, M.; REITH, F.; DENNIS, P.G.; HAMONTS, K.; POWELL, J.R.; YOUNG, A.; SINGH, B.K.; BISSETT, A. Ecological drivers of soil microbial diversity and soil biological networks in the Southern Hemisphere. **Ecology**, v.99, n.3, p.583-596, 2018.

DETHERRIDGE, A. P; CHERRETT, S.; CLASEN, L. A.; MEDCALF, K.; PIKE, S.; GRIFFITH, G. W.; SCULLION, J. Depauperate soil fungal populations from the St. Helena endemic *Commidendrum robustum* are dominated by Capnodiales. **Fungal Ecology**, v.45, p.100911, 2020.

DIAS-FILHO, M. B. **Degradação de pastagens: o que é e como evitar**. Brasília, DF. Embrapa Amazônia Oriental, 2017. p.19.

DIAS-FILHO, M. B. **Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação**. 4ª Edição. Belém, PA: MBDF, 2011. 215 p.

DIAS-FILHO, M. B. **Diagnóstico das pastagens no Brasil**. 1ª Edição. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental-Documentos, 2014. p.38.

DIAS-FILHO, M. B. **Uso de pastagens para a produção de bovinos de corte no Brasil: passado, presente e futuro**. 1ª Edição. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECAE), 2016. p.42.

DJUKIC, I.; ZEHETNER, F.; MENTLER, A.; GERZABEK, M. H. Microbial community composition and activity in different Alpine vegetation zones. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 2, p. 155-161, 2010.

DUBEUX, J. C. B.; SANTOS, M. V. F.; MELLO, A. C. Ciclagem de nutrientes em Pastagens. *In*: REIS, R. A., BERNARDES, T. F., SIQUEIRA, G. R. **Forragicultura: Ciência, Tecnologia e Gestão dos Recursos Forrageiros**. 1ª Edição. Jaboticabal: FUNEP, 2013. p.81-92.

DUBEUX, J. C. B.; SOLLENBERGER, L. E.; MATHEWS, B. W.; SCHOLBERG, J. M.; SANTOS, H. Q. Nutrient cycling in warm-climate grasslands. **Crop Science**, v.47, n.3, p.915-928, 2007.

DUBEUX, J.C.B.; OLLENBERGERL E. S.; INTERRANTE, S.M.; VENDRAMINI J.M.B.; STEWART, R.L. Litter decomposition and mineralization in bahiagrass pastures managed at different intensities. **Crop Science**, v.46, n. 3, p.1305-1310, mai.2006.

ecosystems: a triangular relationship. **Oikos**, Berna, v.79, p.439-449. 1997.
EISENLORD, S. D.; ZAK, D. R. Simulated Atmospheric Nitrogen Deposition Alters Actinobacterial Community Composition in Forest Soils. **Soil Science Society of America Journal**, v.74, n.4, p.1157, 2010.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018. Acesso em: 14 set. 2020.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2019. Acesso em: 15 ago. 2020.

FERRAZ, J.B.S.; FELICIO, P.E.D. Production systems - An example from Brazil. **Meat science**. V.84, n.2, p.238-243, 2010.

FERREIRA, M. L.; SILVA, J. L.; PEREIRA, E. E. & LAMANO-FERREIRA, A. P. N. Litter fall production and decomposition in a fragment of Secondary Atlantic Forest of São Paulo, SP, Southeastern Brazil. **Revista Árvore**, v.38, n.4, p.591-600, 2014.

FISHER, M. J. et al. Carbon storage by introduced deep-rooted grasses in the South American savannas. *Nature*, v. 371, n. 6494, p. 236, 1994. ISSN 1476-4687.

FREIRE, L. R. Manual de calagem e adubação do Estado do Rio de Janeiro. Brasília, DF: **Embrapa**, 2013. 434 p. Disponível em <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/177352/1/Manual-de-calagem-e-adubacao-RJ-2013.pdf> >

FREY-KLETT, P.; BURLINSON, P.; DEVEAU, A.; BARRET, M.; TARKKA, M.; SARNIGUET, A. Bacterial-fungal interactions: hyphens between agricultural, clinical, environmental, and food microbiologists. **Microbiology and molecular biology reviews: MMBR**, v.75, p.583–609, 2011.

GARCÍA-PALACIOS, P.; SHAW, E.A.; WALL, D.H.; HÄTTENSCHWILER, S. Temporal dynamics of biotic and abiotic drivers of litter decomposition. **Ecology Letters** v.19, p.554–563, 2016.

GARRIDO-OTER, R.; NAKANO, R. T.; DOMBROWSKI, N., M.A.; MCHARDY, A. C.; SCHULZE-LEFERT, P. (2018). Modular Traits of the Rhizobiales Root Microbiota and Their Evolutionary Relationship with Symbiotic Rhizobia. **Cell Host & Microbe**, v.24, n.1, p.155–167, 2018.

GAVITO, M. E.; COHEN-SALGADO, D.; NOGUEZ, M. A.; VEGA-PEÑA, E. V. In-situ local litter decomposition was mainly microbial and differed between pastures and mature forests but not along early succession in a tropical dry forest ecosystem, **Forest Ecology and Management**, v.480, p. 118636, 2021.

GESSNER, M. O.; SWAN, C. M.; DANG, C. K.; MCKIE, B. G.; BARDGETT, R. D.; WALL, D. H.; HÄTTENSCHWILER, S. Diversity meets decomposition. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 25, n. 6, p. 372–380, 2010.

GHOLZ, H. L.; WEDIN, A.D; SMITHERMAN, M.S.; HARMON, E.M., PARTON, J.W. Long-term dynamics of pine and hardwood litter in contrasting environments: toward a global model of decomposition. **Global Change Biology**, v.6, n. 7, p.751-765, out. 2000.

GOTTLIEB, D.; SIMINOFF, P. The production and role of antibiotics in the soil, II- Chloromycetin. **Phytopathology, Saint Paul**, v. 42, n. 1, p. 91-97, 1952. Grant, W.D.; Long, P.E. *Microbiologia Ambiental*. Zaragoza: Acribia, 1989. p. 222.

GRAYSTON, S.J.; JONES, D.V.D. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with an annual plant: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. **Applied Soil Ecology**, v.5, n.1, p.29-56, 2001.

GÜSEWELL, S.; GESSNER, M.O. N:P ratios influence litter decomposition and colonization by fungi and bacteria in microcosms. **Funct. Ecol.** v.23, p.211–

219, 2009.

GYLLENBERG, H.G.; EKLUN, E. In: DICKINSON, C.H.; PUGH, G.J.F. *Biology of plant litter decomposition*. London: **Academic Press**, v.2, p.245-268., 1974.

HAMMER, R.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis–Palaeontol. **Acta Palaeontologica Polonica**. v.4, n.1, p.1-9, 2001.

HARTMANN, M. NIKLAUS, P.A.; ZIMMERMANN, S. HÄTTENSCHWILER, S.; TIUNOV, A. V.; SCHEU, S. Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.** v.36, p.191–218, 2005.

HAUTIER, Y.; ISBELL, F.; BORER, E.T. *et al.* Local loss and spatial homogenization of plant diversity reduce ecosystem multifunctionality. **Nat Ecol Evol.**, v.2, p.50–56, 2018.

HAWKER, Lilian E. *The physiology of reproduction in fungi*. **Cambridge University Press**, 2016.

HEAL, O. W. *Plant litter quality and decomposition: an historical overview*. Driven by nature, plant litter quality and decomposition, **1997**.

HIRAISHI, A.; KISHIMOTO, N.; KOSAKO, Y.; WAKAO, N.; TANO, T. Phylogenetic position of the menaquinone-containing acidophilic chemo-organotroph *Acidobacterium capsulatum*. **FEMS microbiology letters**, v. 132, n. 1-2, p. 91-94, 1995.

HOLT, E. A.; MILLER, S. W. Bioindicators: using organisms to measure environmental impacts. **Nature Education Knowledge**, New York, v. 3, n. 10, p. 8, 2011.

Hooper, D. U.; ADAIR, C. E.; CARDINALE, B.J.; BRYRNES, EK., J.; HUNGATE, A.B.; MATULICH, L.K.; GONZÁLEZ, A. DUFFY, E. J.; GAMFELDT, L.; O'CONNOR. A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change. **Nature**, v.486, p.105–108, 2012.

HUGENHOLTZ, P.; PITULLE, K.L.; PACE, N.R. Novel division level bacterial diversity in a Yellowstone hot spring. **Journal of Bacteriology**, v.180, n.3, p.366-76, 1998.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário 2017, 2017**. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=298009>. Acesso em: 15 ago. 2020.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da pecuária municipal, 2018**. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>. Acesso em: 15 ago. 2020.

JANSSEN, P.H. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. **Applied And Environmental Microbiology** v.72, p.1719–1728, 2006.

JOSE, P. A.; JHA, B. New Dimensions of Research on Actinomycetes: Quest for Next Generation Antibiotics. **Frontiers in Microbiology**, v.7, p.1295, 2016.

KENNEDY, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 74, n. 1, p. 65-76, 1999.

KIELAK, A. M.; SCHEUBLIN, T. R.; MENDES, L. W.; VAN VEEN, J. A.; KURAMAE, E. E. Bacterial community succession in pine-wood decomposition. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 231, 2016.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; DAVID, J. C.; STALPERS, J. A. 2001. Dictionary of the Fungi. 9th edition. **CAB International**. Egham, U.K.

KIRK, P.; CANOON, P.F.; MINTER, D.W. Dictionary of the Fungi. **Oxford University Press**, p.771, 2008.

KLEBER, M.; EUSTERHUES, K.; KEILUWEIT, M.; MIKUTTA, C.; MIKUTTA, R.; NICO, P. S. Mineral–organic associations: formation, properties, and relevance in soil environments. *Advances in agronomy*. **Academic Press**, v.130, p.1-140, 2015.

KORANDA, M.; KAISER, C.; FUCHSLUEGER, L.; KITZLER, B.; SESSITSCH, A.; ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S.; RICHTER, A. Fungal and bacterial utilization of organic substrates depends on substrate complexity and N availability. **FEMS microbiology ecology**, v. 87, n. 1, p. 142-152, 2014.

KURAMAE E. E.; HILLEKENS R. H. E.; HOLLANDER. M.D.; VAN DER HEIJDEN, M.G.; VAN STRAALLEN, N. M.; KOWALCHUK, G. A. Structural and functional variation in soil fungal communities associated with litter bags containing maize leaf. **FEMS microbiology ecology**, v.84, p.519–531, 2013.

LAPIG, Laboratório de Processamento de Imagens e Geoprocessamento. **Lapig Maps, 2018**. Disponível em: <https://www.lapig.iesa.ufg.br/lapig/index.php/produtos/dados-geograficos>. Acesso em: 10 set.2020.

LASHERMES, G.; GAINVORS-CLAISSE, A.; RECOUS, S.; BERTRAND, I. Enzymatic strategies and carbon use efficiency of a litter-decomposing fungus grown on maize leaves, stems, and roots. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1315, 2016.

LAUBER C.L.; HAMADY M.; CAVALEIRO R. Pyrosequencing-based evaluation of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at continental scale. **Appl Environment Microbiol**, v.75, p.5111–5120, 2009.

LAUBER, C. L.; STRICKLAND, M. S.; BRADFORD, M. A., FIERER, N. The

influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2407-2415, 2008.

LEJON, D.P.; CHAUSSOD, R.; RANGER, J.; RANJARD, L. Microbial community structure and density under different tree species in an acid forest soil (Morvan, France). *Microbiology Ecology*, 50:614-625, 2005.

LIENHARD, P.; TERRAT, S.; PRÉVOST-BOURÉ, N.C.; NOWAK, V.; RÉGNIER, T.; SAYPHOUMMIE, S.; PANYASIRI, K.; TIVET, F.; MATHIEU, O.; LEVÊQUE, J.; MARON, P.A.; RANJARD, L. Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland. **Agronomy for Sustainable Development**, v.34, p.525-533, 2014.

LIMA, R. P.; FERNANDES, M. M.; FERNANDES, M. R. M.; MATRICARDI, E. A. T. Aporte e decomposição da serapilheira na Caatinga no Sul do Piauí. **Floresta e Ambiente**, v.22, n.1, p.42-49, 2015.

LISANERWORK, N.; MICHELSEN, A. Litterfall and nutrient release by decomposition in three plantations compared with a natural forest in the Ethiopian highland. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.65, p.149-164. 1994.

LISBÔA, M.F.; DONAGEMMA, G.K; BURAK, D.L.; PASSOS, R.R, MENDONÇA, E.S Indicadores de qualidade de Latossolo relacionados à degradação de pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.9, p.1184–1193, 2016.

LONGATTI, S. M. O.; MARA, L. M.; MOREIRA, M. S. et al. Evaluation of plant growthpromoting traits of Burkholderia and Rhizobium strains isolated from Amazon soils for their co-inoculation in common bean. **African Journal of Microbiology Research**, v.7, p.948-959, 2013.

LUNDELL, T. K.; MÄKELÄ, M. R.; DE VRIES, R. P.; HILDÉN, K. S. Genomics, Lifestyles and Future Prospects of Wood-Decay and Litter-Decomposing Basidiomycota. **Advances in botanical research**, v. 70, p.329–370, 2014.

LYND LR WEIMER PJ VAN ZYL WH PRETORIUS E. Use of microbial cellulose: fundamentals and biotechnology. **Microbiol Mol Biol Ver.** v.66, p.506–577, 2002.

MACEDO, M. C. M.; ZIMMER, A. H. Sistemas pasto-lavoura e seus efeitos na produtividade agropecuária. *In*: Simpósio sobre Ecossistemas das Pastagens, Jaboticabal. **Anais [...]** Jaboticabal: Fundação de Estudos e Pesquisas em Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia, 1993. p.216-245.

MANZONI, S.; SCHAEFFER, S. M.; KATUL, G.; PORPORATO, A.; SCHIMEL, J. P. A theoretical analysis of microbial eco-physiological and diffusion limitations to carbon cycling in drying soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 73, p. 69-83, 2014.

MARTHA JUNIOR, G. B.; ALVES, E.; CONTINI, E. Land-saving approaches and beef production growth in Brazil. **Agricultural Systems**, v.110, n.1, p.173-177, jul. 2012.

MATHEUS, D. R.; OKINO, L. K. Utilização de basidiomicetos em processos biotecnológicos. In: Vera Lucia Ramos Bononi; Rosely Ana Piccolo Grandi. (Org.). Zigomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e biotecnologia. 1a. ed. **São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo**, 1998, v. 1, p. 106-139.

MAZZAROLO, L. A. Conceitos básicos de sistemática filogenética. Salvador: UFBA. 24p. Apostila do Curso de Ciências Biológicas do Instituto de Biologia, Departamento de Zoologia. **Museu de Zoologia**, 2005.

MELILLO, J. M.; ABER, J. D.; MURATORE, J. F. Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology*, Washington, dc, v. 63, p. 621-626, 1982.

MONTEIRO, J. S.; SARMENTO, P. S. M.; SOTÃO, H. M. P. Saprobic conidial fungi associated with palm leaf litter in eastern Amazon, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v.9, p.1-19, 2019.

MORA-GÓMEZ, J.; ELOSEGI, A.; DUARTE, S.; CÁSSIO, F.; PASCOAL, C. ROMANÍ, A. M. Differences in the sensitivity of fungi and bacteria to season and invertebrates affect leaf litter decomposition in a Mediterranean stream. **FEMS microbiology ecology**, v. 92, n. 8, p. 121, 2016.

MORENO, A. C. A. Diagnóstico Molecular na era da sequenciação de 3ª geração e da PCR digital. **Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)** — Universidade Fernando Pessoa, Porto, p.69, 2013.

MORI, A. S.; ISBELL, F.; E SEIDL, R. β -Diversity, community assembly, and ecosystem functioning. **Trends in Ecology & Evolution** v.33, p.549-564, 2018.

MOSIER, A. R.; PARTON W. J.; HUTCHINSON, G. L; Modelling nitrous oxide evolution from cropped and native soils. **Ecology Bulletin**, v.35, p.229-241, 1983.

MOURA, A. M., TOMICH, T. R., PEREIRA, L. G. R., TEIXEIRA, A. M., PACIULLO, D. S. C., JAYME, D. G., MACHADO, F.S., GOMIDE, C. A. D. M., CAMPOS, M.M., CHAVES, A.V., GONÇALVES, L. Pasture productivity and quality of *Urochloa brizantha* cultivar Marandu evaluated at two grazing intervals and their impact on milk production. **Animal Production Science**, v.57, n.58, p.1384-1391, 2017.

MUROVHI, N. R.; MATERECHERA, S. A.; MULUGETA, S. D. Seasonal changes in litter fall and its quality from three sub-tropical fruit tree species at Nelspruit, South Africa. **Agroforest System**, v.86, p.61-71, 2012.

NASCIMENTO, M. C.; RIVA, D.D.R.; CHAGAS, O.H.; DIAS, E.L.; FILHO, F. I. E., SOARES, O.V. Uso de imagens do sensor ASTER na identificação de níveis de

degradação em pastagens. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 1, p. 196–202, 2006.

NAYLOR, D.; DEGRAAF, S.; PURDOM, E.; COLEMAN-DERR, D. Drought and host selection influence bacterial community dynamics in the grass root microbiome. **The ISME Journal** v.11, p.2691–2704, 2017.

NEIRA, P.; HENRÍQUEZ-CASTILLO, C.; ORTIZ, J.; STOLPE, N.; DUBE, F. Do different densities of tree cover affect pasture biomass and soil microbial communities? **Agroforestry Systems**. v.95, p.1465-1478, 2021.

NIE, M.; MENG, H.; LI, K.; WAN, J. R., QUAN, Z. X.; FANG, C.M.; CHEN, J. K.; LI, B. Comparison of bacterial and fungal communities between natural and planted pine forests in subtropical China. **Current microbiology**, v. 64, n. 1, p. 34-42, 2012.

NIELSEN, M. N.; WINDING, A. Microorganisms as indicators of soil health. **Denmark: National Environmental Reserch Institute**, Technical Report, 2002.

O'DONNELL, A. G; GÖRES H.E. 16S rDNA methods in soil microbiology. **Current Opinion in Biotechnology**, v.10, n.6, p.225-229, 1999.

OGOLA H. J. O., SELVARAJAN R., TEKERE M. Local Geomorphological Gradients and Land Use Patterns Play Key Role on the Soil Bacterial Community Diversity and Dynamics in the Highly Endemic Indigenous Afrotemperate Coastal Scarp Forest Biome. **Frontiers in Microbiology** . v.12, 2021.

OSONO, Takashi. Functional diversity of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition. **Pesquisa Ecológica**, v. 35, n. 1, pág. 30-43, 2020.

O'TOOLE, G. A.; STEWART, P. S. Biofilms strike back. **Nature biotechnology**, v. 23, n. 11, p. 1378, 2005.

PAJARES, S.; BOHANNAN, B. J. M. Ecology of nitrogen fixing, nitrifying, and denitrifying microorganisms in tropical forest soils. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1045, 2016.

PANG, K. L.; GUO, S. Y.; CHEN, I. A.; BURGAUD, G.; LUO, Z. H.; DAHMS, H. U.; CHA, H. J. Insights into fungal diversity of a shallow-water hydrothermal vent field at Kueishan Island, Taiwan by culture-based and metabarcoding analyses. **Plos one**, v.14, n.12, 2019.

PARRON, L. M. (2004) Aspectos da Ciclagem de Nutrientes em Função do Gradiente Topográfico, em uma Mata de Galeria no Distrito Federal. **Tese (Doutorado em Ecologia)** – Brasília – DF, Universidade de Brasília – UnB, 203p.

PARSONS, S. A.; CONGDON, R. A.; SHOO, L. P.; VALDEZ-RAMIREZ, V.; WILLIAMS, S. E. Spatial variability in litterfall, litter standing crop and litter

- quality in a tropical rainforest region. *Biotropica*, v. 46, p. 378–386, 2014.
- PEDROSA, F. O.; MONTEIRO, R. A.; WASSEM, R.; CRUZ, L. M.; AYUB, R. A.; COLAUTO, N. B.; HUNGRIA, M. Genome of *Herbaspirillum seropedicae* Strain SmR1, a Specialized Diazotrophic Endophyte of Tropical Grasses. ***Plos Genetics***, v.7, n.5, 2011.
- PEIFFER, J. A., SPOR, A., KOREN, O., JIN, Z., TRINGE, S. G., DANGL, J. L., LEY, R. E. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions. ***Proceedings of the National Academy of Sciences***, v.110, n.16, p.6548–6553, 2013.
- PEREIRA, A. A. et al. Variações qualitativas e quantitativas na microbiota do solo e na fixação biológica do nitrogênio sob diferentes manejos com soja. ***Revista Brasileira de Ciência do Solo***, v. 31, n. 6, p. 1397-1412, 2007.
- PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; DROZDOWICZ, A. Dinâmica das populações bacterianas em solos de Cerrados. ***Pesquisa Agropecuária Brasileira***, Brasília, v. 34, n.5, p.801-811, 1999.
- PERON, A. J.; EVANGELISTA, A. R. Degradação de pastagens em regiões de Cerrado. ***Ciência e Agrotecnologia***, v.28, n.3, p.655–661, 2004.
- PERŖOH, D. Plant-associated fungal communities in the light of meta'omics. ***Fungal Diversity***, 1–25, 2015.
- PIMENTA, J. A.; ROSSI, L. B.; TOREZAN, J. M. D.; CAVALHEIRO, A. L.; BIANCHINI, E. Produção de serapilheira e ciclagem de nutrientes de um reflorestamento e de uma floresta estacional semidecidual no sul do Brasil. *Acta Botânica Brasilica*, v. 25, n. 1, p. 53-57, 2011.
- PINDI, P.K.; SULTANA, T.; VOOTLA, P. K. Plant growth regulation of Bt-cotton through *Bacillus* species. ***Biotech***, v.4, p.305–315, 2014.
- PINTO, S. I. C.; MARTINS, S. V.; BARROS, N. F.; DIAS, H. C. T. Produção de serapilheira em dois estádios sucessionais de floresta estacional semidecidual na Reserva Mata do Paraíso, em Viçosa, MG. ***Revista Árvore***, v.32, n.3, p.545-556, 2008.
- PRESCOTT, C. E.; GRAYSTON, S. J. Tree species influence on microbial communities in litter and soil: Current knowledge and research needs. ***Forest Ecology and Management***, v.309, n.1, p.19-27, dez. 2013.
- PROMPUTTHA, I.; MCKENZIE, E. H. C.; TENNAKON, D. S.; LUMYONG, S.; HYDE, K. Succession and natural occurrence of saprobic fungi on leaves of *Magnolia liliifera* in a tropical forest. ***Cryptog. Mycol.*** v.38, p.213-225, 2017.
- PURAHONG, W., KAPTURSKA, D., PECYNA, M. J., JARIYAVIDYANONT, K., KAUNZNER, J., JUNCHEED, K., ... BUSCOT, F. Effects of forest management practices in temperate beech forests on bacterial and fungal communities involved in leaf litter degradation. ***Microbial ecology***, p.69, n.4, p.905-913, 2015.

PURAHONG, W.; KAPTURSKA, D.; PECYNA, M. J.; SCHULZ, E.; SCHLOTTER, M.; BUSCOT, F.; HOFRICHTER, M.; KRÜGER, D. Influence of different forest system management practices on leaf litter decomposition rates, nutrient dynamics and the activity of ligninolytic enzymes: a case study from Central European forests. **Plos One**, v.9, n.4, p.e93700, 2014.

RAGHUKUMAR, Seshagiri. Fungi: Characteristics and classification. In: Fungi in Coastal and Oceanic Marine Ecosystems. **Springer, Cham**. p.1-15, 2017.

RAJA, H. A.; OBERLIES, N. H.; STADLER, M. Occasional comment: Fungal identification to species-level can be challenging. **Phytochemistry**, 2021.

RANJARD, L.; LEJON, D. P. H.; MOUGEL, C.; SCHEHRER, L.; MERDINOGLU, D.; CHAUSSOD, R. Sampling strategy in molecular microbial ecology: influence of soil sample size on DNA fingerprinting analysis of fungal and bacterial communities. **Environmental Microbiology**, v.5, n.11, p.1111-1120, 2003.

REDFORD, A. J. et al. The ecology of the phyllosphere: geographic and phylogenetic variability in the distribution of bacteria on tree leaves. **Environmental Microbiology**, v.12, p.2885–2893, 2010.

Resistance and resilience of the forest soil microbiome to logging-associated compaction. **ISME J**, v.8, p.226–244, 2014.

REZENDE, C. D. P. et al. Litter deposition and disappearance in Brachiaria pastures in the Atlantic forest region of the South of Bahia, Brazil. Nutrient cycling in Agroecosystems, v. 54, n. 2, p. 99-112, 1999. ISSN 1385-1314.
RILEY, M.; BUCKLEY, M. Large-Scale Sequencing: The Future of Genomic Sciences? **American Academy of Microbiology**, n.1, v.1, p.16, 2009.

ROCHA JÚNIOR, P. R. DONAGEMMA, G.K.; ANDRADE, R.V.; PASSOS, R.R.; BALIEIRO, F.C.; MENDENÇA, E.S.; RUIZ, H.A Can Soil Organic Carbon Pools Indicate the Degradation Levels of Pastures in the Atlantic Forest Biome. **Journal of Agricultural Science**, v.6, n.1, p.84–95, 2014.

ROESCH, L.F.W.; FULTHORPE, R.R.; RIVA, A.; CASELLA, G.; HADWIN, A.K.M.; KENT, A.D.; DAROUB, S.H.; CAMARGO, F.A.O.; FARMERIE, W.G.; TRIPLETT, E.W. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. **International Society for Microbial Ecology**, v.1, p. 283-290, 2007.
ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L. Tratado de Microbiologia. São Paulo: **Editora Manole**, v. 2, p.126, 1991.

ROMANÍ, A. M.; FISHER, H.; MILLE-LINDBLOM, C.; TRANVIK, L. J. Interactions of bacteria and fungi on decomposing litter: differential extracellular enzyme activities. **Ecology**, v.87, n.10, p.2559-2569, 2006.

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

ROUSK, J.; BAATH, E.; BROOKES, P. C.; LAUBER, C. L.; LOZUPONE, C.; CAPORASO, J. G. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. **The ISME journal**, v. 4, n. 10, p. 1340, 2010.

ROZENDAAL, D. M. A. et al. Biodiversity recovery of Neotropical secondary forests. *Science Advances*, v.5, n.3, p.eaau3114, 2019.

SALK, C.F.; CHAZDON, R. L.; WAISWA, D. Thinking outside the plot: monitoring forest biodiversity for social-ecological research. **Ecology and Society**, v.25, n.1, 2020.

SANTALAHTI, M.; SUN, H.; SIETIÖ, O. M.; KÖSTER, K.; BERNINGER, F.; LAURILA, T.; PUMPANEN, J.; HEINONSALO, J. Reindeer grazing alter soil fungal community structure and litter decomposition related enzyme activities in boreal coniferous forests in Finnish Lapland. **Applied Soil Ecology**, v.132, p.74-2, 2018.

SANTAREN, K. C. F. (2021). Fluxo de gases de efeito estufa associado à dinâmica composicional e funcional da comunidade bacteriana em resposta à chuva em solos de pastagens. Rio de Janeiro, RJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2021. P.82. **Dissertação** (Microbiologia)- Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, 2021.

SANTOS, A. C. PEREIRA, M.G.; ANJOS, H.C.; BERNINI, T.A.; COOPER, M.; NUMMER, A.R.; FRANCELINO, M.R. Gênese e classificação de solos numa topossequência no ambiente de Mar de Morros no Médio Vale do Paraíba do Sul, RJ. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 1, p. 1297–1314, 2010.

SANTOS, P. E. L. BUSTILLOS-CRISTALES, R. CABALLERO-MELLADO, J. Burkholderia, a genus rich in plant-associated nitrogen fixers with wide environmental and geographic distribution. *Applied Environmental Microbiology*, v.67, p.2790–2798, 2001.

SCHLOSS, P. D.; WESTCOTT, S. L.; RYABIN, T.; HALL, J. R.; HARTMANN, M.; HOLLISTER, E. B.; LESNIEWSKI, R.; OAKLEY, B. B.; PARKS, D. H.; ROBINSON, C. J.; SAHL, J. W.; STRES, B.; THALLINGER, G. G.; VAN HORN, D. J.; WEBER, C. F. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. **Applied and environmental microbiology**, v.75, n.23, p.41-7537, 2009.

SCHNEIDER, T.; KEIBLINGER, K. M.; SCHIMID, E.; STERFLINGER-GLEIXNER, K. ELLERSDORFER, G.; ROSCHITZKI, B.; RICHTER, A.; EBERL, L.; ZECHMEISTERBOLTENSTERN, S.; RIEDEL, K. Who is who in litter decomposition? Metaproteomics reveals major microbial players and their biogeochemical functions. **The ISME journal**, v. 6, n. 9, p. 1749, 2012

SCORIZA, R. N.; PEREIRA, M. G.; PEREIRA, G. H. A.; MACHADO, D. L.; SILVA, E. M. R. Métodos para coleta e análise de serrapilheira aplicados à ciclagem de nutrientes. **Floresta & Ambiente**, v. 2, n. 2, p. 01-18, 2012.

- SEIFERT, K. A.; GAMS, W. The genera of Hyphomycetes—2011 update. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v.27, n.1, p.119-129, 2011.
- SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 587, 2013.
- SINGH, B. K.; BARDGETT, R. D.; SMITH, P.; REAY, D. S. Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options. **Nature Reviews Microbiology**, v.8, n.11, p.779, 2010.
- SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; GRISI, B.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental. Brasília: **EMBRAPA**, 1994. 142p.
- SOUZA J. A.; DAVIDE A. C. Deposição de serapilheira e nutrientes em uma mata não minerada e em plantações de bracatinga (*Mimosa scabrella*) e de eucalipto (*Eucalyptus saligna*) em áreas de mineração de bauxita. **Cerne**, v.7, n.1, p.101-113, 2001.
- SPAIN, J. M.; GUALDRÓN, R. Degradación y rehabilitación de pasturas. *In*: LASCANO, C. E.; SPAIN, J. M. Establecimiento y renovacion de pasturas: conceptos, experiencias y enfoque de la investigacion. **Cali: CIAT**, p.269-283, 1991.
- STUART CHAPIN, F.; MATSON, P.A.; VITOUSEK, P.M.; Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology, Principles of Terrestrial Ecosystem. **Ecology**, v.1 p.4419-9504, 2012.
- STURSOVÁ, M.; ZIFČÁKOVÁ, L.; LEIGH, M. B.; BURGESS, R.; BALDRIAN, P. Cellulose utilization in forest litter and soil: identification of bacterial and fungal decomposers. **FEMS Microbiol Ecol.**, v.80, n.3, p.735, 2012.
- SZOBOSZLAY, M.; WHITE-MONSANT, A.; MOE, L. A. The effect of root exudate 7, 4'- dihydroxyflavone and naringenin on soil bacterial community structure. **Plos One**, v.11, n.1, p. e0146555, 2016.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3.ed. Porto Alegre: **Artmed**. 719p, 2004.
- TAUK, S. M. Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 20, n. 1-4, p. 299-301, 2018.
- THOMAS, R. J.; ASAKAWA, N. Decomposition of leaf litter from tropical forage grasses and legumes. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 25, n. 10, p. 1351-1361, 1993. ISSN 0038-0717.
- TORRES JÚNIOR, A. de M.; AGUIAR, G. A. M. Pecuária de corte no Brasil – potencial e resultados econômicos. *In*: ENCONTRO DE ADUBAÇÃO DE

PASTAGENS DA SCOT CONSULTORIA - TEC - FÉRTIL, n.1., 2013, Ribeirão Preto. **Anais [...]** Bebedouro: Scot Consultoria, 2013. p.9-14.

TORSVIK, V.; OVREAS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 3, p. 240–245, 2002.

Unterseher, M., Peršoh, D., & Schnittler, M. (2013). Leaf-inhabiting endophytic fungi of European Beech (*Fagus sylvatica* L.) co-occur in leaf litter but are rare on decaying wood of the same host. **Fungal Diversity**, v.60, n.1, p.43-54, 2013.

UNTERSEHER, M.; TAL, O. Influence of Small Scale Conditions on the Diversity of Wood Decay Fungi in a Temperate, Mixed Deciduous Forest Canopy. **Mycological Research**, v. 110, n. 2, p. 169-178, 2006.

URBANOVÁ, M.; SNAJDR, J.; BALDRIAN, P. Composition of fungal and bacterial communities in forest litter and soil is largely determined by dominant trees. **Soil Biology and Biochemistry**, v.84, p.53-64, 2015. v.66, p.345-351. 2000.

VALLE, T.R.S. (2018). Níveis de Degradação de Pastagens e Qualidade de Solo na Região do Médio Vale do Paraíba do Sul. Niterói, RJ: Universidade Federal Fluminense, 2018. p.113. **Dissertação** (Engenharia de Biosistemas) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2018.

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

VAN DER WAL, A.; GEYDAN, T. D.; KUYPER, T. W.; DE BOER, W.A thready affair: linking fungal diversity and community dynamics to terrestrial decomposition processes. **FEMS Microbiology Reviews**, v.37, n. 4, p.477-494, 2013.

VITTI, G.C., HEIRINCHS, R. Formas tradicionais e alternativas de obtenção e utilização de nitrogênio e do enxofre: Uma visão holística. **International Plant Nutrition Institute** v.1, p.109-160, 2007.

VOŘÍŠKOVÁ, J., BALDRIAN, P. Fungal community on decomposing leaf litter undergoes rapid successional changes. **ISME J**, v.7, p.477–486, 2013. WAKSMAN, S. A. Soil microbiology. **John Wiley And Sons Inc.**; New York, 1952.

WANG, Q.; WANG, S.; HUANG, Y. Comparisons of litterfall, litter decomposition and nutrient return in a monoculture *Cunninghamia lanceolata* and a mixed stand in southern China. **Forest Ecology and Management**, v.255, n. 3-4, p.1210-1218, 2008.

WARDLE, D. A.; BONNER, K. I.; NICHOLSON, K. S. Biodiversity and plant litter: experimental evidence which does not support the view that enhanced species richness improves ecosystem function. **Oikos**, p. 247-258, 1997.

WATANABE, K. Microorganism relevant to bioremediation. **Current Opinion in Biotechnology**, v.12, n.4, p. 237-241, 2001.

WATSON, E. T.; WILLIAMS, S. T. Studies on the ecology of Actinomycetes in soil. VII - Actinomycetes in a coastal sand belt. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 6, n. 1, p. 43-52, 1974.

WEDIN, D. A.; TILMAN, D. Influence of nitrogen loading and species composition on the carbon balance of grasslands. *Science*, v. 274, p. 1720-1723, 1996.

WHITAKER, J.; OSTLE, N.; MSNAMARA, N. P.; NOTTINGHAM, A. T.; STOTT, A. W.; BARGETT, R. D.; SALINAS, N.; CCAHUANA, A. J. Q.; MEIR, P. Microbial carbon mineralization in tropical lowland and montane forest soils of Peru. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 720, 2014.

WHITAKER, J.; OSTLE, N.; MSNAMARA, N. P.; NOTTINGHAM, A. T.; STOTT, A. W.; BARGETT, R. D.; SALINAS, N.; CCAHUANA, A. J. Q.; MEIR, P. Microbial carbon mineralization in tropical lowland and montane forest soils of Peru. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 720, 2014.

WICKINGS, K.; GRANDY, A. S.; REED, S. C.; CLEVELAND, C. C. The origin of litter chemical complexity during decomposition. **Ecology letters**, v.15, n.10, p.1180-1188, 2012.

WIJAYAWARDENE, N. N.; HYDE, K. D.; AL-ANI, L. K. T.; TEDERSOO, L.; HAELEWATERS, D.; RAJESHKUMAR, K. C.; ... & DENG, C. Outline of Fungi and fungus-like taxa. **Mycosphere**, v.11, n.1, p.1060-1456, 2020.

Wilhelm, R.C.; Singh, R.; Eltis, L. D.; Mohn, W. W. Bacterial contributions to delignification and lignocellulose degradation in forest soils with metagenomic and quantitative stable isotope probing. **ISME J**, v.13, n.2 p.413–429, 2019.

YADAV, R. S.; YADAV, B. L.; CHHIPA, B. R. Litter dynamics and soil properties under different tree species in a semi-arid region of Rajasthan, India. *Agroforestry Systems*, v. 73, p. 1-12, 2008.

YANG, J.K.; ZHANG, J.J.; YU, H.Y.; CHENG, J.W.; MIAO, L.H. Community composition and cellulase activity of cellulolytic bacteria from forest soils planted with broad-leaved deciduous and evergreen trees. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n.3, p.1149-1458, 2014.

YANG, S.; ZHANG, Y., CONG, J.; WANG, M.; ZHAO, M.; LU, H.; XIE, C.; YANG, C.; YUAN, T.; LI, D.; ZHOU, J.; GU, B.; YANG, Y. Variations of soil microbial community structures beneath broadleaved forest trees in temperate and subtropical climate zones. **Frontiers in microbiology**, v.8, p.200, 2017.

YUANHU, L.; ZHAO, S.; WANG, Y. Microbial desulfurization of ground tire rubber by *Sphingomonas* sp.: a novel technology for crumb rubber composites. **Journal of Polymers & the Environment**, New York, v.20, p.372, 2012.

ZAK, J. C.; WILLIG, M. R.; MOORHEAD, D. L.; WILDMAN, H. G. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, n.9, p.1101-1108, 1994.

ZANATTA, J. A.; BAYER, C.; VIEIRA, F. C. B.; GOMES, J.; TOMAZI, M. Nitrous oxide and methane fluxes in south Brazilian Gleysol as affected by nitrogen fertilizers. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** v.34, p.1653-1665, 2010.

ZHANG, H.; YUAN, W.; DONG, W.; LIU, S. Seasonal patterns of litterfall in forest ecosystem worldwide. **Ecological Complexity**, v.20, p.240-247, 2014.

ZHANG, Y.; CROUS, P. W.; SCHOCH, C. L.; HYDE, K. D. Pleosporales. **Fungal diversity**, v.53, n.1, p.1-221. 2012.

ZIMMER, A. H.; MACEDO, M. C. M.; KICHEL, N. A.; ALMEIDA, G. R. **Degradação, recuperação e renovação de pastagens**. 1ª Edição. Brasília, DF: Embrapa Gado de Corte, 2012. p.46.