**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Indicadores microbiológicos de qualidade do solo em Florestas de
Araucária no Estado de São Paulo**

Simone Cristina Braga Bertini

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Microbiologia
agrícola

**Piracicaba
2010**

Simone Cristina Braga Bertini
Ciências Biológicas

**Indicadores microbiológicos de qualidade do solo em Florestas de Araucária no
Estado de São Paulo**

Orientador:
Profa. Dra. **ELKE JURANDY BRAN NOGUEIRA CARDOSO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Microbiologia
Agrícola

**Piracicaba
2010**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Bertini, Simone Cristina Braga

Indicadores microbiológicos de qualidade do solo em Florestas de Araucária no Estado de São Paulo / Simone Cristina Braga Bertini. - - Piracicaba, 2010.
108 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.

1. Análise multivariada 2. Ecologia do solo 3. Microbiologia do solo 4. Pinheiro-do-Paraná
5. Solos - Qualidade I. Título

CDD 634.9751
B543i

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

“Tudo tem seu apogeu e seu declínio...
É natural que seja assim, todavia, quando tudo parece convergir para o que supomos o
nada, eis que a vida ressurge triunfante e bela!...
Novas folhas, novas flores, na infinita benção do recomeço!...”
Chico Xavier

DEDICO

Aos meus pais, Solimar e Deolina, pelo amor incondicional.

Ao meu eterno companheiro Lucas.

Ao meu irmão Sérgio pelo carinho e apoio.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela oportunidade de aprender, trabalhar e compartilhar.

À Prof^a. Dr^a. Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso, pela orientação, confiança, oportunidade, compreensão e valiosa ajuda no desenvolvimento desse trabalho.

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia do Solo (ESALQ/USP), Denise Mescolotti e Luis Fernando Baldesin, pela amizade e pelos ótimos momentos de convivência.

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia do Solo (ESALQ/USP) André Nakatani, Alexandre Martines, Aline Figueiredo, Alessandra Monteiro, Carlos Ribeiro, Daniel Bini, Daniel Lammel, Dilmar Baretta, Fabio Shiraishi, Henrique, Jamil Pereira, Joice Bonfim, Júlia Wayego, Júlia Lima, Marina Horta, Mylenne Silva, Paulo Roger, Pilar Mariani, Patrícia Sanches, Priscila Azevedo, Rafael Valadares, Rafael Vasconcellos, Rafaela Neroni, Sandra e Thiago Gumiere, pelo auxílio, companheirismo e diversão.

Ao Prof. Dr. Marcio Rodrigues Lambais e a todos os amigos do Laboratório de Microbiologia Molecular (ESALQ/USP), Adriano Lucheta, Alice Cacetari, Carolina Baretta, Elisa Matos, Éder Santos, Gisele Nunes, Giselle Monteiro, Joze Correa, Kelly Justin, Marcio Moraes, Sandra Gomes, Rafael Armas, Vívian Carvalho, Winston Ruiz e Wladimir Rosignolo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo pela oportunidade de realização do curso de doutorado.

À Prof^a. Dr^a. Mary Stromberger (Colorado State University, Fort Collins, CO, USA) pela orientação, pela receptividade e pelos bons momentos nos EUA.

Agradeço em especial aos amigos Dilmar Baretta, Marcio Moraes, Adriano Lucheta, Giselle Monteiro, Lucas Carvalho, Priscila Azevedo, Henrique, Dorival, Rafael Valadares, Mylenne Silva e aos estagiários que me ajudaram durante as coletas de solo e nas análises laboratoriais.

À minha antiga e nova família muito obrigada pelo incentivo, amor e paciência.

Ao Lucas agradeço por tudo que fez e faz por mim, pelo seu amor, compreensão, apoio e incentivo.

À Fapesp (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão da bolsa de doutorado e pelo apoio através do projeto temático Biota - Fapesp "Biodiversidade vegetal e de organismos edáficos em ecossistemas de *Araucaria angustifolia* naturais e impactados no Estado de São Paulo" documento nº 01/05146-6.

A todos os familiares, amigos e àqueles que contribuíram para a realização desse trabalho, meu muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
Referências.....	19
2 INDICADORES MICROBIANOS DA QUALIDADE DO SOLO EM FLORESTAS DE ARAUCÁRIA.....	27
Resumo.....	27
Abstract.....	28
2.1 Introdução.....	29
2.2 Desenvolvimento.....	31
2.2.1 Material e Métodos.....	31
2.2.2 Resultados	41
2.2.3 Discussão.....	47
2.3 Conclusão.....	52
Referências.....	53
3 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS MICROBIANO E BIOLOG COMO BIOINDICADORES DO SOLO EM FLORESTAS DE ARAUCÁRIA.....	61
Resumo.....	61
Abstract.....	62
3.1 Introdução.....	63
3.2 Desenvolvimento.....	65
3.2.1 Material e Métodos.....	65
3.2.2 Resultados	69
3.2.3 Discussão.....	82
3.3 Conclusão.....	89
Referências.....	90
APÊNDICES.....	101

RESUMO

Indicadores microbiológicos de qualidade do solo em Florestas de Araucária no Estado de São Paulo

A *Araucaria angustifolia*, conhecida como Pinheiro-do-Paraná é uma espécie ameaçada de extinção no Brasil, está inserida num bioma rico em biodiversidade, a Mata Atlântica, e muito pouco se conhece sobre os atributos microbiológicos dessas florestas. Este trabalho teve como objetivo avaliar potenciais atributos microbiológicos do solo e algumas variáveis ambientais (atributos químicos, físicos e efeito sazonal), a fim de estabelecer bioindicadores de qualidade do solo em Florestas de Araucária. Os estudos foram conduzidos em dois parques estaduais localizados em diferentes regiões do Estado de São Paulo, no município de Campos do Jordão (Parque Estadual de Campos do Jordão - PECJ), nos municípios de Apiaí e Iporanga (Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira - PETAR) e também no município de Barra do Chapéu. Foram escolhidas três áreas no PETAR: FN – floresta nativa de araucária, ND – floresta de araucária com distúrbio antropogênico e PL – plantio de araucária; e quatro áreas foram selecionadas no PECJ: FN – floresta nativa de araucária, ND – floresta de araucária com distúrbio antropogênico, PL – plantio de araucária e PF – plantio de araucária com ocorrência de fogo accidental. Ao acaso, foram selecionadas quinze árvores de araucária por área e sob a copa de cada uma delas foram retiradas amostras na profundidade de 0 a 20 cm, nas épocas seca e de chuva. Foram avaliados os atributos microbiológicos: arilsulfatase (ARIL), fosfatase ácida (FOSF), β -glicosidase (GLIC), desidrogenase (DESID), nitrogênio (NBM) e carbono da biomassa microbiana (CBM), Número Mais Provável (NMP) de amonificantes (AMO), nitrificadores (NITRI), nitratores (NITRA) e desnitrificantes (DESN), respiração basal (RESP), respiração induzida por substrato (RIS), quociente metabólico (qCO_2) e microbiano ($qMIC$). Além disso, foram estabelecidos perfis de ácidos graxos ligados a ésteres de fosfolipídios (EL-PLFAs) e o perfil de capacidade de utilização de substratos de carbono (Biolog). Alguns parâmetros químicos foram avaliados (pH, $H^+ + Al^{3+}$, Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , P, S, N, carbono orgânico total e a capacidade de troca catiônica) e físicos (teores de argila, silte e areia). Verificou-se que o PL do PETAR e PF do PECJ foram relacionados aos atributos microbiológicos ARIL, DESN, CBM e $qMIC$ nos dois períodos. A partição da variabilidade revelou que a atividade microbiana foi influenciada mais pelas variáveis físico-químicas do solo do que pelas áreas e épocas de coleta. Foram identificados perfis de ácidos graxos semelhantes aos aqui obtidos, PETAR e PECJ, em um trabalho anterior no PECJ, o que pode ser indicação de um padrão de EL-PLFA próprio do ecossistema de araucária. Os ácidos graxos 10Me18:0 (actinobactéria), a relação ácido graxo saturado/insaturado (sat/insat), o consumo dos substratos β -metil-D-glicosídeo e o ácido 2-hidroxibenzóico foram também relacionados às áreas PL (PETAR) e PF (PECJ) nos períodos avaliados. Já os ácidos graxos 18:1 ω 9c (fungo) e 16:1 ω 7c (bactéria Gram-), o consumo dos substratos glicose-1-fosfato, α -D-lactose e ácido γ -hidroxibutírico estavam relacionados às áreas impactadas dos dois parques durante os períodos de seca e chuva. Portanto, esses atributos microbiológicos são potenciais indicadores de qualidade do solo em Florestas de Araucária, no entanto, novas avaliações são necessárias para as devidas validações dos bioindicadores e monitoramento dessas áreas.

Palavras-chave: Diversidade funcional; Diversidade estrutural; Bioindicadores; Atividade microbiana; Ação antrópica; Análise de redundância; Partição da variabilidade; Grupos funcionais; Ecologia do solo

ABSTRACT

Microbiological indicators of soil quality in Araucaria Forest in São Paulo State

Araucaria angustifolia, also called Brazil Pine, is an endangered species in Brazil. It is part of one of the richest ecosystems in biodiversity, the Atlantic Forest, and little is known about the soil microbiological attributes in this forest. The objective was to evaluate the potential of the soil microbiological attributes and some environmental variables (physical-chemical properties and seasonal effect) to act as bioindicators of soil quality in Araucaria Forests. This study was undertaken in two different state parks in the São Paulo State, in Campos do Jordão county (Campos do Jordão State Park - PECJ), and in Apiaí and Iporanga counties (Alto Ribeira Touristic State Park - PETAR) and also in Barra do Chapéu county. Three areas were surveyed in PETAR: FN – Native Araucaria forest, ND – Native Araucaria forest with anthropogenic disturbance, and PL – Reforested Araucaria; and four areas in PECJ: FN – Native Araucaria forest, ND – Native Araucaria forest with anthropogenic disturbance; PL – Reforested Araucaria, and PF – Araucaria reforestation submitted to an accidental fire. Fifteen Araucaria trees were selected at random in each area and the soil and roots were sampled at 0 – 20 cm depth, in two contrasting seasons (dry and wet). The microbiological attributes evaluated were: arylsulfatase (ARIL), acid phosphatase (FOSF), β -glucosidase (GLIC), dehydrogenase (DESID), carbon (CBM) and nitrogen microbial biomass (NBM), most probable number (NMP) of bacterial ammonium oxidizers (AMO), nitrite oxidizers (NITRI), nitrate oxidizers (NITRA) and denitrifiers (DESN), basal microbial respiration (RESP), substrate induced respiration (RIS), and metabolic (qCO₂) and microbial quotient (qMIC). Additionally we determined the phospholipid fatty acid profiles (EL-PLFA) and the community level physiological profile (Biolog). Some chemical attributes were evaluated (pH, $H^+ + Al^{3+}$, Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , P, S, CEC, C/N ratio, total organic carbon (COT), total nitrogen (NT), as well as some physical ones (soil texture: clay, sand and silt contents). There was a high correlation between the PL of PETAR and the PF of PECJ and the microbiological attributes ARIL, DESN, CBM and qMIC in both periods. The partitioning of the variability evidenced that microbial activity was influenced in a higher degree by the physical-chemical properties of soil than by study areas or periods. We identified similar fatty acid profiles in PETAR and PECJ and they were also similar to the ones found in a previous work in PECJ, what could indicate a specific EL-PLFA pattern in the Araucaria ecosystem. The fatty acids 10Me18:0 (actinobacteria), the saturated/unsaturated fatty acid ratio (sat/insat), the substrate utilization of β -methyl-D-glucoside and 2-hydroxybenzoic acid were also related to PL (PETAR) and PF (PECJ), in both periods. The 18:1 ω 9c fatty acid (fungi) and 16:1 ω 7c (Gram-), the glucose-1-phosphate, α -D-lactose and γ -hydroxybutyric acid were C-source for microbial communities of the impacted areas in both parks during the wet and dry periods. Therefore, these attributes are potential microbial indicators of soil quality in Araucaria forests, however, new evaluations are required to confirm these biomarkers and to monitor these areas.

Keywords: Functional diversity; Structural diversity; Bioindicator: Microbial activity; Anthropogenic action; Redundancy analysis; Variance partitioning; Functional groups; Soil ecology; Enzymatic activities

1 INTRODUÇÃO

A *Araucaria angustifolia*, conhecida popularmente como Pinheiro-do-Paraná e Pinheiro Brasileiro, a qual está inserida no Bioma Mata Atlântica, classificada como Floresta Ombrófila Mista ou simplesmente Floresta de Araucária (SHIMIZU; OLIVEIRA, 1981). Esse tipo de floresta ocorre naturalmente entre as latitudes 19° 15' S e 31° 30' S e longitudes 41° 30' W e 54° 30' E, abrangendo regiões do sul e sudeste do Brasil, em altitudes que variam entre 500 a 2.300 m, com precipitação média anual entre 1.200 mm a 3.000 mm e temperaturas médias anuais inferiores a 21°C (KLEIN, 1960; GOLFARI, 1967; GUERRA et al., 2003; SANQUETA; TETTO, 2000).

O pinheiro brasileiro possui uma grande importância ambiental, econômica e social. É ambientalmente importante porque abriga uma rica diversidade de animais e vegetais, muitos dos quais estão ameaçados de extinção (MATTOS, 1994; IBGE, 1992; CARDOSO, 2004; BRDE, 2005; CALDEIRA, 2006; METZGER et al., 2009). Em termos econômicos da araucária se extraem produtos madeireiros e não madeireiros dos quais destacam-se: madeira em tora, sementes (pinhão), nó de pinho e a casca. A madeira pode ser utilizada para a produção de móveis e papel (MAINIERI; CHIMELO, 1989; CARVALHO, 1994). O nó de pinho e casca queimam facilmente e possuem um poderoso efeito calorífico, podendo ser utilizados com fonte de energia (BOITEUX, 1947) e, além disso, o nó de pinho pode ser usado na composição de peças artesanais (EMBRAPA, 2003). O pinhão possui um relevante aspecto social ligado às famílias de baixa renda e pequenos agricultores, instalados próximos ou dentro de remanescentes de floresta nativa ou reflorestadas, que utilizam o pinhão como fonte de alimento e para incremento da renda familiar (BALBINOT et al., 2008; SILVA; REIS, 2009). A resina é extraída principalmente da casca e após ser destilada fornece substâncias como: o alcatrão, óleos, acetona, vernizes, entre outros (BRDE, 2005).

No final do século XIX e início do século XX a Floresta de Araucária aos poucos foi sendo substituída por plantações, em alguns casos a floresta era queimada, e em outros a madeira era utilizada na construção de casas e para fins domésticos (GUERRA et al., 2003; CABRAL; CESCO, 2008). A exploração da araucária foi intensificada partir de 1934 até a década de 70, a madeira considerada de alta qualidade foi destinada as fábricas de celulose e móveis da região Sul do Brasil e também para a exportação

(LADEIRA, 2002; CORRÊA, 2010). No Estado de São Paulo a intensa exploração da araucária, entre as décadas de 1930 e 1940, fez com que as reservas de araucária fossem esgotadas (GUERRA et al., 2003). Consequentemente a área que cobria cerca de 185.000 km² foi reduzida a cerca de 3 % da área original, composto por remanescentes florestais fragmentados, isolados e na sua maior parte situados em propriedades particulares (CASTELLA; BRITEZ, 2004, METZGER et al., 2009). Assim, como forma de proteção, a espécie *Araucaria* foi colocada na lista da flora ameaçada de extinção na categoria de vulnerável (IBAMA, 1992), sendo também considerada espécie ameaçada à extinção no Estado de São Paulo (SMA, 2004) e como criticamente ameaçada pela International Union for Conservation of Nature (IUCN) (FARJON, 2006)

Desse modo, a intensa interferência humana nos sistemas naturais está ocasionando processos de degradação do solo que tem comprometido uma considerável parte do solo utilizado no mundo (DORAN et al., 1996; DORAN, 2000). Nos últimos 25 anos aproximadamente 24 % do solo mundial foram degradados (BAI, 2008). Durante o período de 1981 a 2003, por volta de 22 % do solo brasileiro foram degradados, considerando em âmbito global, isso representa aproximadamente 5 % de todo o solo degradado (BAI, 2008). Em vista disso, tornou-se crescente o interesse em estudar parâmetros que indiquem, de forma precoce e eficaz, as alterações que ocorrem no solo, mostrando manejos adequados para preservar ou melhorar sua qualidade e garantir a sustentabilidade dos agroecossistemas (DICK, 1992; CHAER et al., 2009, MENDES et al., 2009). Assim, o termo qualidade do solo tem sido definido como: “A capacidade de um tipo específico de solo funcionar, dentro dos limites do ecossistema manejado ou natural, como sustento para a produtividade de plantas e de animais, de manter ou aumentar a qualidade da água e do ar e de promover a saúde humana” (DORAN; PARKIN, 1994). Portanto, qualidade do solo está relacionada com as funções que capacitem o solo em estocar e reciclar água, nutrientes e energia (CARTER, 2002).

Identificar indicadores que atendam ao conceito de qualidade do solo é difícil devido às várias características químicas, físicas e biológicas que controlam os processos biogeoquímicos e suas variações em decorrência do tempo e espaço

(MENDES et al., 2009). Dessa forma, um conjunto de indicadores envolvendo atributos físicos, químicos e biológicos devem ser selecionados para melhor e seguramente quantificar sua qualidade (TOTÓLA; CHAER, 2002; BASTIDA et al., 2008; VEZZANI; MIELNICZUK, 2009; PAGE-DUMROESE, 2010).

Os micro-organismos são a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo, e são muito importantes nos processos de decomposição de resíduos de plantas e animais, ciclagem biogeoquímica dos elementos, fixação biológica do nitrogênio, decomposição de material mineral, solubilização de nutrientes, formação da matéria orgânica e estrutura do solo (POWLSON; JENKINSON, 1981). Visto a participação dos micro-organismos em todos esses processos, é válida a utilização da fração microbiana como indicadores sensíveis e precoces (POWLSON; JENKINSON, 1981; XAVIER et al., 2006). Alguns estudos mostram que indicadores biológicos são mais sensíveis que indicadores químicos e físicos para revelar com maior antecedência alterações que ocorrem no solo em função do seu uso e manejo (DORAN, 1980; DICK, 1994; TRASAR-CÉPEDA et al., 1998; MATSUOKA et al., 2003).

Dentre os atributos utilizados para caracterizar o componente biológico dos solos, destacam-se alguns, como as medidas de biomassa, a atividade e diversidade microbiana (MENDES; JUNIOR, 2004). A biomassa microbiana do solo é considerada a parte viva da matéria orgânica e inclui fungos, bactérias, arqueas, actinobactérias, protozoários, algas e a microfauna. Assim, constitui parte da fração ativa da matéria orgânica do solo, a biomassa microbiana representa cerca de 2 % a 5 % do C orgânico e cerca de 1 % a 5 % do N total do solo (JENKINSON; LADD, 1981; SMITH; PAUL, 1990). A quantificação da biomassa microbiana é um bom indicador da qualidade do solo, mas não é capaz de fornecer indicações sobre os níveis de atividade das populações microbianas (ANDERSON; DOMSCH, 2010). Em vista disso, é necessário utilizar parâmetros para medir a atividade microbiana a fim de avaliar o estado metabólico atual e potencial das comunidades de micro-organismos do solo, utilizando-se para isso o quociente microbiano (qMIC), o quociente metabólico (qCO₂) e a atividade enzimática (ANDERSON; DOMSCH, 1993; POWLSON et al., 1987; BALDOCCHI et al., 2006; ANDERSON; DOMSCH, 2010).

A quantificação do C-CO₂ liberado pela respiração dos micro-organismos, também conhecido como C prontamente mineralizável ou respiração microbiana basal, é um dos métodos mais utilizados para avaliar a atividade metabólica da população microbiana do solo (ZIBILSKÉ, 1994; ALVAREZ et al., 1995). A respiração microbiana é um indicador sensível da decomposição de resíduos, da mineralização do carbono orgânico do solo e de distúrbios no ecossistema e pode mostrar amplas variações em decorrência da umidade, temperatura e disponibilidade de substratos (ANDERSON; DOMSCH, 1985; SPARLING, 1997). No entanto, alta taxa de respiração pode indicar tanto uma rápida decomposição de resíduos orgânicos liberando nutrientes para os organismos vivos, como também a decomposição de matéria orgânica estável influenciando de forma negativa na agregação do solo, na capacidade de troca de cátions e de retenção de água (ANDERSON; DOMSCH, 1985; SPARLING, 1997).

A partir dos dados de carbono da biomassa, carbono orgânico e respiração basal podem ser calculados o quociente metabólico (qCO₂) e microbiano (qMIC). O qCO₂ é calculado pela relação respiração basal/carbono da biomassa e pode indicar comunidades microbianas em estágio inicial de desenvolvimento, alta atividade microbiana, ou ainda, populações microbianas sob algum tipo de estresse (ANDERSON; DOMSCH, 2003; ANDERSON, DOMSCH, 2010). Já o qMIC é obtido pela relação carbono da biomassa/carbono orgânico total e fornece indicações sobre a qualidade da matéria orgânica. Alto qMIC pode significar a entrada de resíduos de alta qualidade, ou seja, resíduos orgânicos com baixo conteúdo de lignina e alta capacidade de decomposição que influenciam a quantidade de biomassa microbiana e a sua atividade (POWLSON et al., 1987; BALDOCCHI et al., 2006; ANDERSON; DOMSCH, 2010). Assim, segundo Anderson e Domsch (2010), a diversidade da matéria orgânica proporciona o desenvolvimento de comunidades microbianas mais eficientes no consumo de carbono do solo.

As enzimas do solo, como indicadores biológicos, são sensíveis na detecção de diferenças entre solos por influência antrópica, porque estão envolvidas com a atividade biológica e, além disso, são de fácil determinação (TABATABAI, 1994; DICK, 1994; TRASAR-CÉPEDA et al., 1998). Todos os organismos vivos do solo (micro-organismos, plantas e fauna) contribuem com a síntese de enzimas, que podem ser excretadas de

células vivas ou liberadas de células mortas (TABATABAI, 1994). Podem ser encontradas de forma livre ou complexada em colóides, minerais de argilas e substâncias húmicas (BURNS, 1982; NANNIPIERI et al., 2002). As enzimas livres são rapidamente decompostas pelos micro-organismos do solo e aquelas ligadas a argila e matéria orgânica são resistentes a degradação (NANNIPIERI et al., 1996). As enzimas catalisam reações bioquímicas e são essenciais na ciclagem do C, N, P, e S no solo (SKUJINS, 1978; NANNIPIERI et al., 2002; TABATABAI, 1994; WALLENSTEIN; WEINTRAUB, 2008), contribuem na descontaminação de solos pela degradação de poluentes orgânicos ou imobilização de metais pesados (NANNIPIERI et al., 2002; NANNIPIERI et al., 2003). Assim, sugere-se que a determinação da atividade microbiana seja útil para avaliar a diversidade funcional, investigar a ecologia microbiana e viabilizar indicadores de qualidade do solo (NANNIPIERI et al., 2002; NANNIPIERI et al., 2003).

Diferentes métodos foram desenvolvidos para auxiliar no estudo das comunidades microbiológicas e de suas funções ecológicas. Métodos que avaliam a diversidade estrutural por meio do perfil de ácidos graxos (VESTAL; WHITE, 1989; SAETRE; BÅÅTH, 2000; PUGLISI et al., 2006; STROMBERGER et al., 2007), ou da heterogeneidade do DNA (TIEDJE et al., 1999; HONG et al., 2010), diversidade funcional por meio perfil de consumo de substratos de carbono (GARLAND; MILLS, 1991), outros métodos que visam detectar a diversidade funcional da comunidade do solo também são valiosos, como a proteômica, onde proteínas específicas podem ser identificadas e utilizadas como bioindicadores funcionais da qualidade do solo (MARON et al., 2007).

As metodologias que envolvem o material genético e os lipídios são importantes para descrever a diversidade de espécies ou a diversidade genética de uma comunidade microbiana, mas pouco elucidam sobre os processos bioquímicos do solo, pois não se pode correlacionar diretamente a alteração na comunidade e a mudança das funções que estejam acontecendo no solo (VAN BRUGGEN; SEMENOV, 2000). Por isso, são técnicas que não devem ser utilizadas isoladamente para explicar a complexidade existente no solo (BASTIDA et al., 2008).

A análise da diversidade funcional, por meio do perfil de consumo de substratos de carbono, pode ser útil na caracterização da comunidade microbiana (GARLAND; MILLS, 1991). Utilizando esse método na comparação entre ambientes perturbados e não perturbados tem-se a possibilidade de confirmar a presença de redundância de funções no ecossistema, ou seja, a existência de populações que desempenham um mesmo papel funcional (ZILLI et al., 2003). Desse modo, um solo que apresenta uma maior redundância de funções e diversidade, provavelmente é capaz de manter o equilíbrio dos processos ecológicos ou voltar rapidamente ao estado anterior à perturbação, o que caracteriza uma sua capacidade de resiliência (ZILLI et al., 2003; TÓTOLA; CHAER, 2002). No entanto, a perda de diversidade genética não necessariamente tem como consequência a inibição de função de processos bioquímicos do solo, uma vez que a perda de uma determinada espécie pode ser compensada pela presença de outra, desempenhando a mesma função no sistema (GRIFFITHS et al., 2001; SETÄLÄ; McLEAN, 2004; KENNEDY, 2003; ZILLI et al., 2003).

Devido à grande devastação que as florestas de araucária têm sofrido e ao incipiente conhecimento referente aos processos biológicos do solo, torna-se imprescindível conhecer a diversidade dos micro-organismos edáficos e seus processos. Esse trabalho está vinculado ao projeto BIOTA/FAPESP (Nº 01/05146-6) – “Biodiversidade vegetal e de organismos edáficos em ecossistemas de *Araucaria angustifolia* naturais e impactadas no estado de São Paulo”. Tendo como objetivo avaliar a atividade, grupos funcionais de micro-organismos, diversidade estrutural e funcional microbiana do solo, em conjunto com atributos químicos e físicos, como forma de indicar o efeito causado pela ação antrópica em áreas com florestas de araucária e sugerir bioindicadores capazes de responder aos distúrbios ocorridos nesse ecossistema. Tal objetivo fundamenta-se na seguinte hipótese: os indicadores microbiológicos são capazes de responder prontamente às modificações ocorridas nas áreas impactadas com araucária, possibilitando a detecção rápida e precisa de alterações no solo.

Referências

- ALVAREZ, R.; DIAZ, R.A.; BARBERO, N.; SANTANATOGLIA, O.J.; BLOTTA, L. Soil organic carbon, microbial biomass and CO₂-C production from three tillage systems. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 33, p. 17-28, 1995.
- ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 1, p. 81-89, 1985.
- ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.25, p.393-395, 1993.
- ANDERSON, T.H., DOMSCH, K.H. Soil microbial biomass: The eco-physiological approach. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, p. 2039 – 2043, 2010.
- BAI, Z.G.; DENT, D.L.; OLSSON, L.; SCHAEPMAN, M.E. **Global assessment of land degradation and improvement**. 1. Identification by remote sensing. Wageningen: ISRIC – World Soil Information, 2008. p. 78 (Report 2008/01)
- BALBINOT, R.; GARZEL, J.C.L.; WEBER, K.S.; RIBEIRO, A.B. Tendências de consumo e preço de comercialização do pinhão (semente da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze.), no estado do Paraná. **Ambiência**, Guarapuava, v. 4, p.463-472, 2008.
- BALDOCCHI, D.D.; TANG, J.; XU, L. How switches and lags in biophysical regulators affect spatio-temporal variation of soil respiration in an oak-grass Savanna. **Journal Geophysical Research Biogeosciences**, Gottingen, v.111, p. 1-13, 2006.
- BANCO REGIONAL DE DESENVOLVIMENTO DO EXTREMO SUL - BRDE. Agência de Florianópolis. Gerência de Planejamento. **Cultivo da *Araucaria angustifolia***: análise de viabilidade econômico-financeira. Florianópolis: BRDE, 2005. 53 p.
- BASTIDA, F.; ZSOLNAY, A.; HERNÁNDEZ, T.; GARCIA, C. Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. **Geoderma**, Amsterdam, v.147, p. 159–171, 2008.
- BOITEAUX, H. **Madeiras de construção de Santa Catarina**. Florianópolis: IBGE, 1947. 108 p.
- BURNS, R.G. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.14, p.423-427, 1982.
- CABRAL, D.C.; CESCO, S. Notas para uma história da exploração madeireira na mata atlântica do sul-sudeste. **Ambiente e Sociedade**, Campinas, v. 6, p. 33-48, 2008.

CALDEIRA, M.V.W.; WATZLAWICK, L.F.; SOARES, R.V.; VALÉRIO, A.F. Teores de micronutrientes em espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Mista Montana - General Carneiro/PR. **Ambiência - Revista do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais**: Guarapuava, v. 2, n. 1, p. 29-50, 2006.

CARDOSO, E.J.B.N. **Biodiversidade vegetal e de organismos edáficos em ecossistemas de *Araucaria angustifolia* naturais e impactados no Estado de São Paulo**. Piracicaba: ESALQ; 2004. 23p. (Projeto temático versão equipe processo FAPESP 01/05146-6).

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras**. Recomendações silviculturais, potencialidades e uso da Madeira. Brasília: EMBRAPA, 1994. 639 p.

CASTELLA, P.R.; BRITEZ, R.M. **A floresta com Araucária no Paraná: conservação e diagnóstico dos remanescentes florestais**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004. 233 p.

CHAIER, G.M.; FERNANDES, M.F.; MYROLD, D.D.; BOTTOMLEY, P.J. Shifts in Microbial Community Composition and Physiological Profiles across a Gradient of Induced Soil Degradation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, p. 1327-1334, 2009.

CORREIA, P.R.R. Legislação é incapaz de conter o Desmatamento: o exemplo da Araucária. Disponível em: <<http://noticias.ambientebrasil.com.br/artigos/2010/06/02/55450-legislacao-e-incapaz-de-conter-o-desmatamento-o-exemplo-da-araucaria.html>>. Acesso em: 20 nov. 2010.

DICK, R.P. A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 40, p. 25-36, 1992.

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

DORAN, J.L.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STAWART, B.A. Defining soil quality for a sustainable environment. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 3-21.

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

DORAN, J.W.; ZEISS, M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component so soil quality. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, n.15, p. 3-11, 2000.

DORAN, J.W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M.A. Soil health and sustainability. **Advances in Agronomy**, San Diego, n. 56, p. 1-54, 1996.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. EMBRAPA. Cultivo do pinheiro-doparaná. 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pinheiro-do-Parana/CultivodoPinheirodoParana/index.htm>>. Acesso em: 28 nov. 2010.

FARJON, A. 2006. *Araucaria angustifolia*. In: IUCN 2010 - IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details/32975/0>> Acesso em: 28 nov 2010.

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

GOLFARI, L. Coníferas aptas para repoblações florestais em el Estado de São Paulo. **Silvicultura em São Paulo**, São Paulo, v.6, p.7-62, 1967.

GRIFFITHS, B.S.; RITZ, K.; BARDGETT, R.D.; COOK, R.; CHRISTENSEN, S.; EKELUND, F.; SØRENSEN, S.J.; BÁÁTH, E.; BLOEM, J.; DE RUITER, P.C.; DOLFING, J.; NICOLARDOT, B. Ecosystem response of pasture soil communities to fumigation-induced microbial diversity reductions: an examination of the biodiversity-ecosystem function relationship. **Oikos**, Blackwell, v. 90, p. 279–294, 2001.

GUERRA, M.P.; SILVEIRA, V.; REIS, M.S.; SCHNEIDER, L. Exploração, manejo e conservação da araucária (*Araucaria angustifolia*). In: SIMÕES, L.L.; LINO, C.F. (Ed.). **Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais**. São Paulo: SENAC, 2002. p.85-102.

HONG, J.W.; FOMINA, M.; GADD, G.M. F-RISA fungal clones as potential bioindicators of organic and metal contamination in soil. **Journal of Applied Microbiology**, London, v. 109, p. 415-430, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS IBAMA. 1992. Listagem oficial das espécies vegetais brasileiras ameaçadas de extinção. Brasília, DF: MMA. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/flora/extincao.htm>>. Acesso em: 28 nov 2010.

JENKINSON, D.S.; LADD, J.N. Microbial biomass in soils: measurement and turnover. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N. (Ed.). **Soil biochemistry**, 5th ed. New York: Marcel Decker, 1981. p. 415-471.

KENNEDY, A.C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environmental**, Amsterdam, v. 74, p. 145-156, 2003.

KLEIN, R.M. O aspecto dinâmico do pinheiro-brasileiro. **Sellowia**, Itajaí, v. 12, p. 17-44, 1960.

LADEIRA, H.P. **Quatro décadas de engenharia florestal no Brasil**. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais, 2002. 207p.

MAINIERI, C.; CHIMELO, J.P. **Fichas de características das madeiras brasileiras**. São Paulo: Instituto de Pesquisa Tecnológica, 1989. 418 p.

MARON, P.; RANJARD, L.; MOUGEL, C.; LEMANCEAU, P. Metaproteomics: A new approach for studying functional. **Microbial Ecology**, New York, v. 53, p. 486-493, 2007.

MATTOS, J.R. **O pinheiro brasileiro**. 2.ed. Santa Catarina: Princesa, 1994. v.1. 225p.

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

MENDES, I.C.; JUNIOR, F.B.R. Uso de parâmetros microbiológicos como indicadores para avaliar a qualidade do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas. EMBRAPA Cerrados, Planaltina-DF, 2004. 31p.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; REIS JUNIOR, F.B.; FERNANDES, M.F.; CHAER, G.M.; MERCANTE, F.M.; ZILLI, J.E. **Bioindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade?** Planaltina-DF: EMBRAPA CERRADOS, 2009. p.31.

METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; DIXO, M.; BERNACCI, L.C.; RIBEIRO, M.C.; TEIXEIRA, A.M.G.; PARDINI, R. Time-lag in biological responses to landscape changes in a highly dynamic Atlantic forest region. **Biological Conservation**, Oxford, v. 142, p. 1166–1177, 2009.

NANNIPIERI, P.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M.T.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G.; RENELLA, G. Microbial diversity and soil functions. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 54, p. 655–670, 2003.

NANNIPIERI, P.; KANDELER, E.; RUGGIERO, P. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In: Burns, R.G.; Dick, R.P. (Ed.). **Enzyme in the Environment**. New York: Marcel Dekker, 2002. chap. 1, p. 1-33.

NANNIPIERI, P.; SEQUI, P.; FUSI, P. Humus and enzyme activity. In: PICCOLO, A. (Ed.). **Humus substances in terrestrial ecosystems**. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1996. chap. 7, p. 293-328.

PAGE-DUMROESE, D.; NEARY, D.; TRETTIN, C. Scientific background for soil monitoring on National Forests and Rangelands: workshop; April 29-30, 2008. Denver, CO. **Proceedings...** RMRS-P-59. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture Forest Service; Rocky Mountain Research Station. tech. (Ed.). 2010. 126 p.

POWLSON, D.S.; BROOKES, P.C.; CHRISTENSEN, B.T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil biology and biochemistry**, Oxford, v. 19, p.159-164, 1987.

POWLSON, D.S.; JENKINSON, D.S. A comparison of the organic matter, biomass, adenosine triphosphate and mineralizable nitrogen contents of ploughed and direct-drilled soil. **Journal of Agricultural Science**, New York, n. 97, p. 713-721, 1981.

PUGLISI, E.; DEL RE, A.A.M.; RAO, M.A. ;GIANFREDI, L. Development and validation of numerical indexes integrating enzyme activities of soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.38, p. 1673–1681, 2006.

SAETRE, P.; BÅÅTH, E. Spatial variation and patterns of soil microbial community structure in a mixed spruce-birch stand. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, n. 32, p. 909-917, 2000.

SANQUETA, C.R.; TETTO, A.F. **Pinheiro-do-Paraná**: Lendas e realidades. Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, 2000. 112p.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Resolução SMA 48, de 21 de setembro de 2004. Espécies da flora ameaçadas de extinção no Estado de São Paulo. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/licenciamentoo/legislacao/estadual/resolucoes/2004_Res_SMA_48.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2010.

SETÄLÄ, H.; McLEAN, M.A. Decomposition rate of organic substrates in relation to the species diversity of soil saprophytic fungi. **Oecologia**, Berlin, v. 139, p. 98-107, 2004.

SHIMIZU, J.Y.; OLIVEIRA, Y.M.M. **Distribuição, variação e usos dos recursos genéticos da araucária no sul do Brasil**. Curitiba: EMBRAPA, URPFC, 1981. 13 p.

SILVA, C.V.; REIS, M.S. Produção de pinhão na região de Caçador, SC: aspectos da obtenção e sua importância para comunidades locais. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 19, n. 4, p. 363-374, 2009.

SKUJINS, J. History of abiotic soil enzyme research. In: BURNS, R.G. (Ed.). **Soil Enzymes**. New York: Academic Press, 1978. chap. 1, p. 1–50.

SMITH, J.L.; PAUL, E.A.. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.; STOTZKY, D.G., (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: M. Dekker, 1990. v.6. p.357-396.

SPARLING, G.P. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In: PANKHURST, C.; DOUBE B. M.; GUPTA, V.V.S.R. (Ed.). **Biological indicators of soil health**, Cambridge: CAB International, 1997. p.97-120.

STROMBERGER, M.; SHAH, Z.; WESTFALL, D. Soil microbial communities of no-till dryland agroecosystems across an evapotranspiration gradient. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 35, p. 94-106, 2007.

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: WEAVER, R.W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.S.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. pt 2: Microbiological and biochemical properties. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 778-833.

TIEDJE, J.M.; ASUMING-BREMPONG, S.; NÜSSLEIN, K.; MARSH, T.L.; FLYNN, S.J. Opening the black box of soil microbial diversity. **Applied Soil Ecology**. Amsterdam, n. 13, p.109-122, 1999.

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

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

VAN BRUGGEN, A.H.C.; SEMENOV, A.M. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, n. 15, p.13-24, 2000.

VESTAL, J.R.; WHITE, D.C. Lipid analysis in microbial ecology. **BioSciences**, Washington, n. 39. p. 535-541, 1989.

VEZZANI, F.; MIELNICZUK, M.J. Uma visão sobre qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 743-755, 2009

WALLENSTEIN, M. D.; WEINTRAUB, M. N. Emerging tools for measuring and modeling the in situ activity of soil extracellular enzymes. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, p.2098–2106, 2008.

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

ZIBILSKE, L.M. Carbon mineralization. In: WEAVER, R.W.; SCOTT, A.; BOTTOMLEY, P.J. (Ed.). Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties. **Soil Science Society of America**. Madison, 1994. pt-2. p. 836-864. (Special Publication, 5)

ZILLI, J.E.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COUTINHO, H.L.C.; NEVES, M.C.P. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, Brasília, v. 20, p. 391-411, 2003.

2 INDICADORES MICROBIANOS DA QUALIDADE DO SOLO EM FLORESTAS DE ARAUCÁRIA

Resumo

A Floresta de Araucária é uma das mais exuberantes formações encontradas no Bioma Mata Atlântica que é um dos 25 “hotspots” de biodiversidade do mundo. Esse ecossistema sofreu uma intensa exploração e por isso a *Araucaria angustifolia* é considerada como uma espécie em extinção. São poucos os remanescentes naturais dessa floresta e, dessa forma, são necessários estudos e emprego de novas tecnologias que possam ajudar na sua recuperação. O desmatamento além de causar prejuízos no solo, por meio da erosão, também pode ocasionar a perda da diversidade microbiana do solo, interferindo em todo o ecossistema e, por conseguinte na sua sustentabilidade. Assim, a hipótese do nosso estudo é que indicadores microbianos da qualidade do solo podem responder à ação antrópica ocorrida em áreas de Floresta de Araucária com diferentes distúrbios. O objetivo foi encontrar bioindicadores microbianos que respondam melhor às modificações ocorridas em Floresta de Araucária. O estudo foi conduzido em dois parques, sendo escolhidas três áreas no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR): FN – floresta nativa de araucária, ND – floresta de araucária com distúrbio antropogênico e PL – plantio de araucária; e quatro áreas foram selecionadas no Parque Estadual de Campos do Jordão: FN – floresta nativa de araucária, ND – floresta de araucária com distúrbio antropogênico, PL – plantio de araucária e PF – plantio de araucária com ocorrência de fogo accidental. A coleta ocorreu em duas épocas distintas, período de chuva e seca. Foram avaliados os atributos microbiológicos: arilsulfatase (ARIL), fosfatase ácida (FOSF), β -glicosidase (GLIC), desidrogenase (DESID), nitrogênio (NBM) e carbono da biomassa (CBM), número mais provável (NMP) de amonificantes (AMO), nitritadores (NITRI), nitratores (NITRA) e desnitrificantes (DESN), respiração basal (RESP), respiração induzida por substrato (RIS), quociente metabólico (qCO_2) e microbiano ($qMIC$), e algumas propriedades físicas e químicas do solo. O PL do PETAR e PF do PECJ foram relacionados à ARIL, DESN, CBM, $qMIC$ nos dois parques e período seco e chuvoso. A partição da variabilidade revelou que os atributos microbiológicos foram mais influenciados pelas variáveis físico-químicas do solo do que pelas áreas e épocas de coleta. Não foram encontrados indicadores que fossem sensíveis para o distúrbio ocorrido nas áreas ND dos dois parques e PL do PECJ. Os atributos microbiológicos se mostraram potenciais indicadores de qualidade do solo, uma vez que se relacionaram as áreas impactadas nos períodos e parques avaliados.

Palavras-chave: Bioindicadores; Atividade microbiana; Análise de redundância; Grupos funcionais; Atividade enzimática; Propriedades físico-químicas; Variabilidade particionada

Abstract

The Araucaria Forest is one of the most spectacular formations found in the Atlantic Forest Biome. It is one of the 25 biodiversity hotspots in the world. This ecosystem has tolerated an intense exploration and, therefore, *Araucaria angustifolia* is considered a species in danger of extinction. There are few remaining natural forest, for that reason, studies and use of new technologies are required to help in their recovery. The deforestation can cause damage to the soil, such as erosion, and consequently the loss of soil microbial diversity, affecting the entire ecosystem and hence its sustainability. Thus, the hypothesis of our study is that microbial indicators of soil quality may respond to anthropogenic activities occurring in areas of Araucaria forest with different disorders. The objective was to find microbial bioindicators that are more sensitive to the anthropogenic interference in Araucaria Forest. The study was surveyed in two parks, three areas in Alto Ribeira Touristic State Park (PETAR): FN – Native Araucaria forest, ND – Native Araucaria forest with anthropogenic disturbance, and PL – Reforested Araucaria; and four areas in PECJ: FN – Native Araucaria forest, ND – Native forest with anthropogenic disturbance; PL – Reforested Araucaria, and PF – Reforested Araucaria submitted to intense accidental fire. The samples were collected in dry and wet seasons. The microbiological attributes evaluated were: arilsulfatase (ARIL), acid phosphatase (FOSF), β -glucosidase (GLIC), dehydrogenase (DESID), carbon (CBM) and nitrogen microbial biomass (NBM) most probable number (NMP) of bacterial ammonium oxidizers (AMO), nitrite oxidizers (NITRI), nitrate oxidizers (NITRA) and denitrifiers (DESN), basal microbial respiration (RESP), substrate induced respiration (RIS), and metabolic (qCO₂) and microbial quotient (qMIC) and some physical-chemical properties of soil. There was a high correlation between the PL of PETAR and the PF of PECJ and the microbiological attributes ARIL, DESN, CBM and qMIC in both periods. The partitioning of the variability evidenced that microbial activity was influenced in a higher degree by the physical-chemical properties of soil than by the study areas or periods. None of these bioindicators was sensitive enough to discriminate the disturbed areas (ND areas in both parks and PL in PECJ) and the native areas. The microbiological attributes used together are sensitive to alterations occurring in the soil of Araucaria forests, since they show a high correlation with impacted areas and parks in both assessment periods.

Keywords: Bioindicators; Microbial activities; Redundancy analysis; Functional groups; Enzymatic activities; Physical-chemical properties; Variance partitioning

2.1 Introdução

A *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze é um pinheiro nativo do Brasil inserido no Bioma Mata Atlântica, é classificada como Floresta Ombrófila Mista e popularmente conhecida como mata de araucária, floresta de pinheiros ou simplesmente araucária (SHIMIZU; OLIVEIRA, 1981). A floresta de araucária é um ecossistema rico que abriga uma variedade de espécies vegetais, animais e microbianas com interações complexas e dinâmicas (MATTOS, 1994; IBGE, 1992; CARDOSO, 2004; BRDE, 2005; CALDEIRA, 2006).

A degradação dessa floresta, entre os séculos XIX e XX, ocorreu principalmente pela retirada de madeira, considerada de alta qualidade que foi destinada as fábricas de celulose e móveis da região Sul do Brasil e também do exterior (LADEIRA, 2002). Desse modo, a floresta de araucária que antes cobria cerca de 185.000 km², resta cerca de 3 % da área original, sendo composta por florestas fragmentadas e na sua maior parte dentro de propriedades particulares (CASTELLA; BRITZ, 2004, METZGER et al., 2009). Por esse motivo a *Araucaria angustifolia* foi incluída na lista de espécies ameaçadas de extinção do IBAMA (1992), e é hoje protegida por lei, contudo, a retirada dessa espécie ainda é feita de forma ilegal (SANTOS, 2010; CORRÊA, 2010).

Com a retirada da vegetação nativa, o solo torna-se muito susceptível à degradação. Nos últimos 25 anos cerca de 24 % do solo mundial foi degradado, sendo que 15 % dessa degradação já havia sido detectada em 1991 (BAI et. al., 2008). Portanto, isso indica que novas áreas estão sendo impactadas. Dessa forma, entender os processos chave relacionados à decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes são de suma importância para se conseguir monitorar, manter e recuperar a qualidade do solo. Diante disso, houve um crescente interesse em se medir a perda da qualidade do solo resultante do uso da terra (DICK, 1992). E definiu-se a qualidade do solo como “A capacidade do solo de funcionar dentro dos limites do ecossistema para sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade ambiental e promover a saúde de plantas e animais” (DORAN; PARKIN, 1994).

Alguns autores consideram as propriedades químicas e físicas como bons indicadores da saúde do solo. Todavia, as propriedades bioquímicas são preferidas

pelo fato de serem mais sensíveis e responderem mais rapidamente às modificações ocorridas no ambiente (DICK, 1992; NANNIPIERI et al. 2002; GIL-SOTRES et al., 2005). Não obstante, devido à complexidade dos processos bióticos e abióticos existente no solo, os indicadores individualmente não são capazes de explicar e quantificar todos os aspectos da qualidade do solo (MENDES et al., 2009). Por isso, a avaliação da qualidade do solo pode ser feita utilizando um conjunto de indicadores composto por atributos químicos, físicos e biológicos do solo (DORAN, PARKIN, 1994).

Dessa maneira, alguns indicadores microbiológicos, como o carbono da biomassa microbiana (CBM), a respiração basal (RESP) e os quocientes microbiano (qCO_2) e metabólico ($qMIC$), são frequentemente utilizados como indicadores de qualidade do solo devido à alta sensibilidade desses parâmetros para mudanças no uso da terra e práticas de manejo (JENKINSON; LAND, 1981; BARETTA et al., 2008, JIANG et al., 2009; KASCHUK et al., 2010; ANDERSON, 2009; ANDERSON; DOMSCH, 2010). As enzimas têm sido identificadas como possíveis indicadores de qualidade do solo, devido à rápida resposta que tem mostrado para mudanças no manejo (DICK, 1994; BANDICK; DICK, 1999, FLOCH et al., 2009).

Assim, em vista da degradação que a floresta de araucária tem sofrido, e a consequente situação de extinção dessa espécie, ainda se tem pouca informação sobre microbiota desse ecossistema. Então, estudos que envolvam a avaliação de atributos microbiológicos nos diferentes níveis de distúrbio das áreas de araucária, serão importantes para se entender mais sobre a ecologia microbiana e avaliar quanto a interferência antrópica pode ter modificado a microbiota do solo desse ecossistema. Nossa hipótese é que indicadores microbiológicos do solo são sensíveis aos diferentes níveis de distúrbios ocorridos nas áreas com araucária. Portanto, o objetivo foi encontrar indicadores microbiológicos que melhor respondem a essas modificações e saber em que grau esses atributos podem ser influenciados pelas diferentes épocas, níveis de perturbação (áreas) e propriedades físico-químicas do solo.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Material e métodos

Descrição das áreas de estudo

As áreas envolvidas no presente estudo são pertencentes a dois Parques Estaduais no Estado de São Paulo que ainda mantém florestas de araucária residuais e posteriormente implantadas. Foram selecionados o Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), que se situa no sudeste do estado de São Paulo e o Parque Estadual de Campos do Jordão (PECJ) que está localizado no nordeste do estado de São Paulo.

As áreas escolhidas pertencentes ao PETAR (24° 20' S e 48°36' W) e ao município de Barra do Chapéu – SP (24°28' S e 49°01' W) estão a uma altitude média de 900 m, e possuem iguais condições quanto ao clima, mas possuem solos diferentes, sendo caracterizados como Argissolo vermelho-amarelo no PETAR e Cambissolo háplico no município de Barra do Chapéu (EMBRAPA, 2006) (Figura 2.1).

Figura 2.1 - Localização das áreas de araucária dentro do PETAR (Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira) e no município de Barra do Chapéu, SP. Floresta nativa de araucária (FN) ($24^{\circ}28'48.01''S$ e $49^{\circ}01'32.32''W$), plantio de araucária (PL) ($24^{\circ}20'13.44''S$ e $48^{\circ}36'13.25''W$) e floresta de araucária com distúrbio antropogênico (ND) ($24^{\circ}28'31.29''S$ e $49^{\circ}01'17.76''W$)

Essas áreas apresentam clima subtropical de altitude, mesotérmico úmido (Cfb), segundo a classificação de Köppen, sendo caracterizado por estações de verão e inverno bem definidas e ocorrência de precipitação em todos os meses do ano (Figura 2.2).

Figura 2.2 - Temperatura média mensal (°C) e precipitação pluviométrica mensal (mm), registradas no município de Ribeira-SP, no período de fevereiro de 2007 a março de 2008, com a 1ª coleta de solo em setembro de 2007 e a 2ª coleta em fevereiro de 2008. Dados fornecidos pela estação meteorológica automática de Ribeira-SP

No PETAR as áreas estudadas são: 1) floresta nativa de araucária (FN) situada em uma propriedade particular no município de Barra do Chapéu que possui alta densidade de araucárias, com presença de várias espécies arbóreas, arbustivas e herbáceas (Figura 2.3A); 2) floresta nativa de araucária com distúrbio (ND) sofre interferência antrópica, devido à proximidade da área urbana do município de Barra do Chapéu, com a entrada de pessoas e o corte de madeira (Figura 2.3B); 3) plantio de araucária (PL) que está dentro do PETAR no município de Iporanga e possui idade de aproximadamente 25 anos (Figura 2.3C). Nesse último, há predominância de araucárias, com a presença de espécies arbustivas, herbáceas e principalmente de gramíneas. É um ecossistema que apresenta em seu sub-bosque restos de pastagem (*Brachiaria* sp.). Nesse local há influência antrópica pela presença de pequenas propriedades agrícolas e de alguns tipos de animais, como cavalos e gado.

Figura 2.3 - A) Floresta nativa de araucária (FN); B) floresta de araucária com distúrbio antropogênico (ND) e C) plantio de araucárias no PETAR

As áreas pertencentes ao PECJ ($22^{\circ}40' S$ e $45^{\circ}27' W$) estão a uma altitude média de 1700 m e possuem condições de clima e solo iguais, que são caracterizados como Latossolo vermelho-amarelo distrófico de textura argilosa (EMBRAPA, 2006) (Figura 2.4).

Figura 2.4 - Localização das áreas de araucária dentro do PECJ (Parque Estadual de Campos do Jordão). Floresta nativa de araucária (FN) ($22^{\circ}41'24.28''\text{S}$ e $45^{\circ}28'39.81''\text{W}$), plantio de araucária (PL) ($22^{\circ}39'18.60''\text{S}$ e $45^{\circ}26'22.58''\text{W}$), floresta de araucária com distúrbio antropogênico (ND) ($22^{\circ}41'29.00''\text{S}$ e $45^{\circ}27'52.00''\text{W}$) e plantio de araucária com fogo acidental (PF) ($22^{\circ}39'38.25''\text{S}$ e $45^{\circ}26'34.66''\text{W}$)

O município de Campos do Jordão apresenta clima tropical de altitude (Cwa) segundo a classificação de Köppen, caracterizado como clima mesotérmico com inverno seco, verão quente e chuvoso (Figura 2.5).

Figura 2.5 - Temperatura média mensal (°C) e precipitação pluviométrica mensal (mm), registradas no município de Campos do Jordão, no período de fevereiro de 2007 a abril de 2008, com a 1ª coleta em outubro de 2007 e a 2ª coleta em março de 2008. Dados fornecidos pela estação meteorológica automática de Campos do Jordão

No PECJ as áreas estudadas são: 1) floresta nativa de araucária (FN) possui maior diversidade dentro daqueles avaliados no Parque (Figura 2.6A). É composta basicamente por diversas espécies arbustivas, herbáceas e arbóreas pertencentes às famílias *Araucariaceae*, *Clethraceae*, *Cunnoniaceae*, *Lauraceae*, *Melastomataceae*, *Podocarpaceae*, *Rosaceae*, *Symplocaceae*, *Myrsinaceae* e *Euphorbiaceae*; 2) a floresta de araucária com distúrbio (ND) possui árvores mais espaçadas e grande quantidade de plantas herbáceas, sofre interferência antrópica, com intensa entrada de pessoas e animais, como pasto para gado (Figura 2.6B). 3) plantio de araucária (PL) que foi plantado em 1959 (Figura 2.6C). Encontra-se nesta área a presença de *Podocarpus lambertii* e poucas espécies herbáceas e gramíneas. 4) plantio de araucária submetido a fogo (PF), o qual foi implantado em 1959, e um incêndio acidental intenso ocorreu em julho de 2001 (Figura 2.6D). Apresenta-se em estado de regeneração, com menor densidade de araucárias e predomínio da gramínea *Aristida longiseta*, da composta

Braccharis trimera e do gênero *Paspalum*, com algumas espécies arbustivas e herbáceas. É comum o pastejamento por bovinos nas áreas ND, PL e PF; esses animais são provenientes de pequenas propriedades rurais presentes dentro do parque. Maiores informações sobre a flora arbórea, arbustiva e herbácea do Parque Estadual de Campos do Jordão podem ser obtidas em Robim et al. (1990).

Figura 2.6 - A) Floresta nativa de araucária (FN); B) floresta de araucária com distúrbio antropogênico (ND); C) plantio de araucária (PL) e D) plantio de araucária submetido ao fogo acidental (PF) no PECJ

Dessa forma, foram estabelecidas 3 áreas no PETAR e 4 áreas no PECJ. Cada área, com aproximadamente 0,5 ha, foi dividida em 3 subáreas aproximadamente iguais para haver melhor representatividade. Posteriormente foi feito um transecto e, ao acaso, foram georreferenciadas 5 árvores em cada subárea utilizando o GPS MAGELAN 300, dando um total de 15 árvores por área. Para cada árvore selecionada, três pontos na profundidade de 0-20 cm foram coletados sob a copa para compor uma única amostra de solo. A primeira amostragem foi feita no período seco (setembro/2007-PETAR e outubro/2007-PECJ) e a segunda amostragem no período chuvoso (fevereiro/2008-PETAR e março/2008-PECJ) (Figuras 2.2 e 2.5). As amostras de solo foram homogeneizadas, passadas por uma peneira de malha 2 mm e, aquelas destinadas aos ensaios microbiológicos foram armazenadas a uma temperatura de $7\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$. As destinadas aos ensaios físico-químicos foram mantidas a temperatura ambiente até a realização dos ensaios.

Avaliação dos atributos físicos e químicos do solo

Para a análise química e física do solo todas as amostras foram secas a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ em estufa. As variáveis analisadas foram: pH, $\text{H}^+ + \text{Al}^{3+}$, Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , P, S total (S), N total (NT), Carbono Orgânico Total (COT) e a Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0 (CTC) na camada de 0-20 cm. Os métodos usados e as referências são apresentados na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Métodos utilizados para a análise química do solo

Variável do solo	Método ou extrator	Referência
pH	Medido em CaCl_2 0,01 M	Raij et al., 2001
$\text{H}^+ + \text{Al}^{3+}$	Acetato de Cálcio pH 7,0	Raij et al., 2001
Al^{3+}	KCl 1 M e titulação com NaOH 0,025 M	Raij et al., 2001
P	Resina trocadora de íons	Raij et al., 2001
Ca^{2+} e Mg^{2+}	Extração em KCl e determinação em espectrofotometria de absorção atômica	Raij et al., 2001
S	Extração com $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 0,01 mol.L ⁻¹	Raij et al., 2001
COT	Digestão com $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	Raij et al., 2001
NT	Método de Kjeldahl	Raij et al., 2001
K^+	Mehlich 1	Embrapa, 1999

A somatória de bases (SB) foi calculada pela soma de (Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^{+}), a CTC a pH 7,0 foi calculada somando-se os valores dos teores de ($\text{H}^{+} + \text{Al}^{3+}$, Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^{+}) e, por fim, calculou-se a porcentagem da saturação da CTC por bases ($\text{SB} \times 100 / \text{CTC}$) para a profundidade de 0-20 cm.

A composição granulométrica do solo foi determinada pelo método do hidrômetro com uma leitura (GEE; OR, 2002).

As análises químicas foram realizadas com as amostras do período seco e chuvoso. Porém, devido à baixa sensibilidade dos parâmetros físicos (textura) à sazonalidade, a avaliação da composição granulométrica foi realizada somente com as amostras do período chuvoso.

Avaliação dos atributos microbiológicos

O teor de carbono da biomassa microbiana (CBM) foi determinado pelo método da fumigação-extração, após incubação no escuro por 24 horas, extração com K_2SO_4 (0,5 mol.L⁻¹), oxidação com $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (66,7 mM) e titulação com sulfato ferroso amoniacal [$(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$] (33,3 mM) (VANCE et al., 1987). O teor de nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) foi determinado pelo método de fumigação-extração (VANCE et al., 1987), sendo a medida do nitrogênio reativo feita com ninhidrina adaptado por Joergensen e Brookes (1990) e Joergensen (1996).

A respiração microbiana (RESP) foi estimada pelo CO_2 liberado do solo que foi incubado juntamente com frasco contendo NaOH (0,05 mol L⁻¹) por 24 horas, durante 10 dias. Em cada amostra adicionou-se BaCl_2 e o indicador fenolftaleína, a titulação foi feita com HCl (0,05 mol.L⁻¹) (ALEF, 1995). A respiração induzida (IND) é similar a basal, no entanto, há o acréscimo de 0,5 g de glicose em 100 g de solo (0,5 %) sendo incubados por 8 dias (ALEF, 1995).

Foi determinado o quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) pela relação da respiração microbiana/biomassa microbiana, segundo metodologia proposta por Anderson e Domsch (1993). Já o quociente microbiano ($q\text{MIC}$) foi calculado pela relação do carbono da biomassa/carbono orgânico total, expresso em porcentagem (Anderson, 1994).

Foram quantificadas as atividades enzimáticas do solo relacionadas aos ciclos do carbono (β -glucosidase) (GLIC), do fósforo (fosfatase ácida) (FOSF) e do enxofre (arilsulfatase) (ARIL) de acordo com os métodos descritos por Tabatabai (1994), por meio da determinação colorimétrica do p-nitrofenol liberado pela ação dessas enzimas, quando o solo é incubado com substratos específicos para cada uma delas. A atividade da desidrogenase (DESID) foi realizada conforme Casida et al. (1964).

Foram feitos também o Número Mais Provável (NMP) de amonificantes (AMO) (SARATHCHANDRA, 1978), nitrificantes (nitritadores - NITRI, nitratadores - NITRA) (SCHMIDT; BELSER, 1994) e desnitrificantes (DESN) (ULBRICH et al., 2004). Utilizaram-se diluições de 10^{-4} a 10^{-8} para amonificantes, 10^{-2} a 10^{-5} para nitrificantes e 10^{-2} a 10^{-7} para desnitrificantes.

Análise estatística dos dados

Para analisar a resposta das variáveis microbiológicas em relação às propriedades químicas e físicas do solo, a análise de redundância (RDA) foi realizada por meio do programa Canoco versão 4.5 (TER BRAAK; SMILAUER, 2002). Antes de ser feita a RDA, a relação entre as variáveis microbiológicas e ambientais foram submetidos à Análise de Correspondência Retificada ou “Detrended Correspondence Analysis (DCA)”. A DCA mostrou que o comprimento do gradiente sempre foi < 3 indicando que cada espécie assume uma resposta linear em relação ao gradiente (TER BRAAK; SMILAUER, 2002). Alguns atributos químicos e físicos do solo, que são variáveis explicativas, foram retirados da RDA por meio da ferramenta “forward selection” por apresentarem colinearidade. Realizou-se o teste de permutação de Monte Carlo com 999 permutações para verificar a significância da variabilidade dos dados explicados ($p < 0,05$) (TER BRAAK, 2002). A partir disso, a significância das correlações sugeridas pela RDA foi também verificada por meio da correlação de Spearman ($p < 0,05$) (ZAR, 1996).

A Análise de Redundância Parcial (pRDA) foi utilizada para se verificar a relativa contribuição e significância das variáveis ambientais no total da variabilidade dos dados microbiológicos (ARIL, FOSF, GLIC, DESID, NBM, CBM, AMO, NITRI, NITRA, DESN,

RESP, RIS, qCO_2 e $qMIC$). As variáveis ambientais foram agrupadas dentro de três categorias, como se segue: 1) diferentes áreas, 2) períodos de coleta e 3) atributos físico-químicos do solo. Assim, a variância total dos dados microbiológicos é obtida a partir da corrida completa da RDA, com todas as variáveis ambientais avaliadas. A partir disso, a variância explicada por cada variável ambiental foi obtida pela corrida parcial da RDA sendo um grupo de variável usado como variável explicativa e o outro como covariável. Mais detalhes sobre essa análise podem ser obtidos em Liu (1997) e Legendre (2008).

As variáveis químicas e físicas do solo foram submetidos à análise de variância (ANOVA two-way) utilizando-se o programa estatístico SISVAR versão 5.0 (FERREIRA, 2007), seguido pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparar as médias entre as áreas e épocas avaliadas.

2.2.2 Resultados

Os atributos microbiológicos no PETAR foram submetidos à análise de redundância (RDA) e ao teste de Monte Carlo que se mostrou estatisticamente significativo ($p < 0,01$) tanto no período seco (Figura 2.7A) como no período chuvoso (Figura 2.7B). As variáveis ambientais, no período seco, explicaram 42,5 % da variabilidade dos dados microbiológicos. O primeiro eixo explicou 37,4 % e o segundo eixo 22,7 % da variabilidade (Figura 2.7A), e encontrou-se uma correlação de 0,836 dos atributos microbiológicos com as variáveis ambientais. No período chuvoso, as variáveis ambientais explicaram 40,6 % da variabilidade dos dados microbiológicos. Foi explicado no primeiro eixo 34,2 % da variabilidade e no segundo eixo 19,1 % (Figura 2.7B). Também apresentaram uma alta correlação (0,856) entre os atributos microbiológicos e as variáveis ambientais.

Na RDA, observa-se a nítida separação das áreas FN e ND da área PL, formando 2 agrupamentos distintos nos períodos analisados. Desse modo, sugere-se que FN e ND possuem características microbiológicas e ambientais que são muito mais próximas entre si do que quando comparadas a PL (Figuras 2.7A e 2.7B).

Alguns atributos microbiológicos e variáveis ambientais se relacionaram às mesmas áreas tanto no período seco como no chuvoso. As áreas FN e ND se relacionaram

positivamente a AMO, NITRI, NITRA, DESID, RESP e qCO_2 e às variáveis ambientais pH, SB e P (Figuras 2.7A e 2.7B). A correlação de Spearman foi positiva entre NITRI e NITRA com o pH ($r_s = 0,269$, $p < 0,05$; $r_s = 0,289$, $p < 0,01$, respectivamente). E, além disso, NITRI e NITRA foram correlacionados positivamente entre si ($r_s = 0,256$, $p < 0,05$). O PL se relacionou ao qMIC, CBM, ARIL e DESN e às variáveis ambientais NT, COT e argila. O qCO_2 foi positivamente relacionado à RESP ($r_s = 0,596$, $p < 0,0001$) e negativamente relacionado à qMIC ($r_s = -0,720$, $p < 0,0001$) e CBM ($r_s = -0,694$, $p < 0,0001$), sendo os DESN positivamente relacionados à CBM ($r_s = 0,445$, $p < 0,0001$).

A relação C/N apresentou correlação negativa com o qMIC ($r_s = -0,785$, $p < 0,001$), enquanto que houve relação positiva com o qCO_2 ($r_s = 0,413$, $p < 0,0001$). O COT apresentou correlação positiva com DESN ($r_s = 0,495$, $p < 0,0001$), NBM ($r_s = 0,566$, $p < 0,0001$) e RIS ($r_s = 0,428$, $p < 0,0001$). O NT apresentou correlações positivas com DESN ($r_s = 0,514$, $p < 0,0001$) e NBM ($r_s = 0,571$, $p < 0,0001$), e também com CBM ($r_s = 0,365$, $p < 0,001$) e RIS ($r_s = 0,382$, $p < 0,001$). O P foi positivamente relacionado à AMO ($r_s = 0,301$, $p < 0,01$).

A

Soil properties: *pH*, *SB*, *P*, *AMO*, *NITRA*, *NT*, *CTC*, *COT*, *CBM*, *NBM*, *DES*, *ARG*, *PL*, *Argila*, *RIS*, *FOSF*, *ARIL*, *qMIC*, *GLIC*, *NITRI*, *DESID*, *RESP*, *ND*, *FN*, *qCO₂*, *Arcia*.

Legend: **FN** (filled rectangle), **ND** (filled circle), **PL** (filled diamond).

B

Soil properties: *pH*, *SB*, *P*, *AMO*, *NITRA*, *NT*, *CTC*, *COT*, *CBM*, *NBM*, *DES*, *ARG*, *PL*, *Argila*, *RIS*, *FOSF*, *ARIL*, *qMIC*, *GLIC*, *NITRI*, *DESID*, *RESP*, *ND*, *FN*, *qCO₂*, *Arcia*.

Legend: **FN** (open rectangle), **ND** (open circle), **PL** (open diamond).

Os atributos microbiológicos no PECJ foram submetidos à análise de redundância (RDA) e ao teste de Monte Carlo que se mostrou estatisticamente significativo ($p < 0,01$) nos períodos seco e chuvoso (Figuras 2.8A e 2.8B, respectivamente). As variáveis ambientais, no período seco, explicaram 42,8 % da variabilidade dos dados microbiológicos. O primeiro eixo explicou 57,6 % e o segundo eixo 19,5 % da variabilidade (Figura 2.8A), e encontrou-se uma alta correlação entre atributos microbiológicos e variáveis ambientais de 0,911. No período chuvoso as variáveis ambientais explicaram 33,1 % da variabilidade dos dados microbiológicos do solo. Foi explicado no primeiro eixo 45,9 % da variabilidade e no segundo eixo 23,7 % (Figura 2.8B). Também apresentaram uma alta correlação entre atributos microbiológicos e variáveis ambientais de 0,822.

As áreas se agruparam distintamente no período seco, exceto as áreas ND e PL que não se separaram, no entanto, as áreas FN e PF se mostraram distintas em relação às demais e entre si. No período chuvoso, apesar de formarem grupos distintos, as áreas FN e PL estiveram mais próximas entre si e ficaram separadas das áreas ND e PF. Isso é uma indicação de que as variáveis ambientais e microbiológicas foram mais semelhantes entre as áreas ND e PL no período seco e depois entre FN e PL no período chuvoso.

Quando se levam em consideração os períodos seco e chuvoso, verifica-se que PF se relacionou positivamente ao qMIC, CBM, AMO, NITRI, NITRA, DESN e ao pH, enquanto que a FN se relacionou positivamente a FOSF e argila (Figuras 2.8A e 2.8B). O pH foi positivamente relacionado a NITRI ($r_s = 0,280$, $p < 0,01$) e NITRA ($r_s = 0,296$, $p < 0,01$). E, além disso, o NITRI e NITRA também foram correlacionados positivamente entre si ($r_s = 0,277$, $p < 0,01$). O qCO₂ foi positivamente relacionado à RESP ($r_s = 0,483$, $p < 0,0001$), e foi negativamente relacionado ao qMIC ($r_s = -0,765$, $p < 0,0001$) e CBM ($r_s = -0,873$, $p < 0,0001$). E os DESN foram positivamente relacionados à CBM ($r_s = 0,359$, $p < 0,0001$). O NBM e a ARIL se relacionaram a PF no período seco e a ND no período chuvoso. RIS, COT e areia se relacionaram a ND e PL no período seco e a ND no período chuvoso.

A relação C/N correlacionou-se positivamente ao qCO₂ ($r_s = 0,484$, $p < 0,01$) e negativamente com qMIC ($r_s = -0,366$, $p < 0,01$). O COT se mostrou relacionado positivamente a DESN ($r_s = 0,311$, $p < 0,001$), NBM ($r_s = 0,316$, $p < 0,001$) e RIS ($r_s = 0,296$,

$p < 0,01$), enquanto o NT se correlacionou positivamente a DESN ($r_s = 0,489$, $p < 0,0001$), CBM ($r_s = 0,428$, $p < 0,0001$), NBM ($r_s = 0,534$, $p < 0,0001$) e RIS ($r_s = 0,281$, $p < 0,01$).

Figura 2.8 - Análise de redundância (triplo) (RDA) dos atributos microbiológicos e variáveis ambientais (época, área, atributos químicos e físicos do solo) no PECJ (Parque Estadual de Campos do Jordão). A) período seco (símbolos cheios) e B) período chuvoso (símbolos vazios); áreas: floresta nativa de araucária (FN), floresta de araucária com distúrbio antropogênico (ND) plantio de araucária (PL) plantio de araucária submetido ao fogo acidental (PF); variáveis microbiológicas: enzimas arilsulfatase (ARIL), fosfatase ácida (FOSF), β -glicosidase (GLIC) e desidrogenase (DESN), nitrogênio (NBM) e carbono (CBM) da biomassa, NMP de amonificantes (AMO), nitrificadores (NITRI), nitrificadores (NITRA) e desnitrificantes (DESN), respiração basal (RESP), respiração induzida (RIS), quociente metabólico (qCO_2) e microbiano ($qMIC$) e variáveis ambientais: pH, fósforo (P), carbono orgânico total (COT), enxofre (S), soma de bases (SB), nitrogênio total (NT), teor de argila (Argila) e areia (Areia). Os símbolos maiores são os centróides de cada área

A RDA parcial (pRDA) mostrou que as variáveis ambientais foram capazes de explicar 41,5 % no PETAR e 36,8 % no PECJ da variabilidade dos dados microbiológicos, sendo que a variabilidade não explicada foi de 58,2 % e 63,2 %, respectivamente (Tabela 2.2). No PETAR observou-se que os atributos físicos e químicos do solo foram os que mais explicaram a variabilidade dos dados microbiológicos, o que foi seguido pelo efeito conjunto dos atributos físico-químicos do solo e pelas épocas, efeito conjunto dos atributos físico-químicos do solo e áreas, efeito de áreas e efeito de épocas (Tabela 2.2). No PECJ também constatou-se que os atributos físicos e químicos do solo foram os que mais explicaram a variabilidade dos dados microbiológicos, tendo sido seguido pelo efeito simples de áreas, efeito conjunto dos atributos físico-químicos do solo e áreas, efeito conjunto dos atributos físico-químicos do solo e épocas, efeito de épocas e efeito conjunto de áreas e épocas (Tabela 2.2). O teste de Monte Carlo revelou relações significativas para todas as combinações ($p < 0,01$), exceto para o efeito de épocas no PETAR (Tabela 2.2).

Tabela 2.2 - Partição da variabilidade dos atributos físico e químicos, áreas e épocas na variação dos dados microbiológicos no PETAR e PECJ por meio da Análise de Redundância Parcial (pRDA)

PETAR	Porcentagem da variação (%)	eixo1	eixo2	p
atributos físico-químicos do solo $\cap$ áreas $\cap$ épocas	0	-	-	-
atributos físico-químicos do solo $\cap$ áreas	6,7	-	-	-
atributos físico-químicos do solo $\cap$ épocas	14,5	-	-	-
áreas $\cap$ épocas	0	-	-	-
atributos físico-químicos do solo	15,4	26,8	21,1	0,008
Áreas	3,5	68,3	31,7	0,005
Épocas	1,4	100	0	*0,067
total da variabilidade explicada	41,5	42,8	20,6	0,001
total da variabilidade não explicada	58,2	-	-	
PECJ				
atributos físico-químicos do solo $\cap$ áreas $\cap$ épocas	0	-	-	-
atributos físico-químicos do solo $\cap$ áreas	7,9	-	-	-
atributos físico-químicos do solo $\cap$ épocas	7,5	-	-	-
áreas $\cap$ épocas	0,6	-	-	-
atributos físico-químicos do solo	10	35,3	25,5	0,002
Áreas	8,6	70,9	23,9	0,001
Épocas	2,2	100	0	0,001
total da variabilidade explicada	36,8	45,8	23	0,001
total da variabilidade não explicada	63,2	-	-	-

* Não foi significativo a 1 % pelo Teste de Monte Carlo.

2.2.3 Discussão

Nesse estudo, o efeito dos atributos químicos e físicos do solo foram os mais importantes na variação dos dados microbiológicos, tanto no PETAR como no PECJ (Tabela 2.2). Já foi observado em outros estudos que os diferentes tipos de manejo e a disponibilidade de nutrientes influenciem fortemente a variabilidade dos atributos biológicos do solo. Resultados semelhantes foram encontrados para a atividade enzimática do solo em diferentes tipos de manejo em um pomar de maçã, onde as propriedades físicas e químicas do solo explicaram a maior parte do total da variação da atividade enzimática (FLOCH et al., 2009).

A biomassa microbiana, considerada a parte viva da matéria orgânica do solo, está envolvida em diversos processos, como decomposição, ciclagem de nutrientes, formação

da matéria orgânica, dentre outros (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Visto a importante participação da biomassa microbiana em todos esses processos, mudanças no ambiente podem ser refletidas rapidamente por alterações na quantidade do carbono da biomassa microbiana (CBM) (CHOROMANSKA; DELUCA, 2001; FIALHO et al., 2006). Nesse sentido, verificou-se que houve uma relação positiva entre CBM e as áreas consideradas impactadas do PETAR (PL) e do PECJ (PF) (Figuras 2.7A, 2.7B, 2.8A e 2.8B). No entanto, sabe-se que a biomassa unicamente não pode medir o estado metabólico da comunidade e, para essa finalidade, outros indicadores podem ser utilizados, como o quociente microbiano (qMIC), quociente metabólico (qCO₂) e a atividade enzimática (ANDERSON; DOMSCH, 1993; POWLSON et al., 1987; BALDOCCHI et al., 2006; ANDERSON; DOMSCH, 2010).

O quociente microbiano (qMIC), dado pela relação CBM/COT, possui como característica principal a rapidez em responder às mudanças ocorridas no ambiente e possibilita um melhor entendimento sobre a dinâmica da matéria orgânica no solo. Por isso é considerado um indicador capaz de revelar variações ambientais em diferentes tipos de ecossistema (TÓTOLA; CHAER, 2002; ANDERSON, 2003; ANDERSON; DOMSCH, 2010). Mudanças nessa relação CBM/COT podem refletir a entrada e o quão diversa é a matéria orgânica no solo, a eficiência de incorporação do C pelos micro-organismos e a estabilização do C orgânico pelas frações minerais do solo (SPARLING, 1992; ANDERSON; DOMSCH, 2010).

No presente trabalho, o qMIC e a CBM foram correlacionados positivamente às áreas de plantio, PL (PETAR) e PF (PECJ). O abandono das áreas de plantio e o agravamento pelo fogo no PECJ com abertura de clareiras pode ter favorecido o aumento da irradiação solar, e consequentemente a elevação da temperatura solo, propiciando a germinação e o desenvolvimento de espécies arbóreas secundárias e a disseminação de gramíneas invasoras (FRANÇA; POGGIANI, 1996). Além disso, a presença de gramíneas nessas áreas pode ter proporcionado maiores quantidades de substratos de fácil decomposição, proveniente da liberação de exsudatos das raízes, assim modificando a composição da comunidade microbiana (SPARLING, 1992; LI et al., 2007). Essa hipótese pode ser corroborada pela relação negativa entre qMIC e

relação C/N, sugerindo que a biodisponibilidade de C foi melhorada nas áreas que possuem a cobertura por gramíneas.

Por meio da correlação de Spearman confirmou-se que o qCO_2 foi positivamente correlacionado com a RESP e com a relação C/N e negativamente relacionado ao $qMIC$ e CBM, sendo que o qCO_2 e a RESP foram negativamente relacionados ao PL (PETAR) e ao PF (PECJ) (Figuras 2.7A, 2.7B, 2.8A e 2.8B). O qCO_2 , sendo a respiração específica por parte da biomassa microbiana, pode indicar se uma biomassa é eficiente ou não na utilização do C. Dessa maneira, de acordo com a teoria, da bioenergética do desenvolvimento dos ecossistemas, de ODUM (1969) adaptada por ANDERSON; DOMSCH (1989; 1990) para o solo, diz que num ambiente em equilíbrio a biomassa mais eficiente perderia menos C na forma de CO_2 durante a respiração e imobilizaria mais C nas células microbianas. Portanto, seria obtido um baixo qCO_2 e alto $qMIC$. Assim, Anderson e Domsch (2010) comparando os índices qCO_2 e $qMIC$ por um longo período de tempo em sistemas agrícolas (monocultivo X rotação de culturas) e sistemas naturais (florestais com faia X florestas com faia e carvalho), evidenciaram que os sistemas mais complexos representados pela rotação de cultura e florestas com faia e carvalho, sempre apresentaram menor qCO_2 e maior $qMIC$. Nesse contexto, esses autores acreditam ter confirmado a hipótese de que o aumento na diversidade da matéria orgânica desenvolve uma comunidade microbiana do solo mais eficiente no uso do carbono disponível.

De acordo com esses estudos, no presente trabalho sugere-se que a relação negativa entre qCO_2 e $qMIC$ seja um indicativo de maior eficiência da comunidade microbiana em utilizar o carbono do solo no PL (PETAR) e PF (PECJ) quando comparadas às demais áreas. Dessa maneira, no PL e PF a presença de gramíneas pode ter proporcionado à comunidade microbiana, condições edáficas benéficas, ocasionadas pelos substratos de boa qualidade para decomposição, liberados pelas raízes das gramíneas e também pela presença de excrementos de animais que pastoreiam nessas áreas.

Por outro lado, a relação positiva de qCO_2 com as demais áreas pode ser devido à quantidade e qualidade da serapilheira (Figura 2.7A, 2.7B, 2.8A e 2.8B). A serapilheira na floresta de araucária é composta na sua maior parte por acículas que

são de difícil decomposição devido à alta concentração de lignina (SHAW et al., 1991, MERLIM, 2005). Assim, Backes et al. (2005) constataram, em uma floresta de araucária, que o tempo necessário para renovação e decomposição de 50 % do material vegetal foi de 316 dias, e esse tempo foi muito maior do que os períodos encontrados para outras fitocenoses tropicais. Ainda, de acordo com esses mesmos autores, a produção de serapilheira ocorre durante todo o ano, apresentando picos de deposição distintos para os pinheiros e latifoliadas (BACKES et al., 2005). Então, a baixa taxa de decomposição favorece o acúmulo de material vegetal na superfície do solo e isso pode justificar as altas relações C/N encontradas nas áreas de araucária estudadas (BACKES et al., 2005).

Alguns grupos funcionais são capazes de sofrer modificações com a alteração do ambiente e, dentre esses grupos, tem-se os micro-organismos nitrificantes que podem ter sua função no solo alterada pelo oxigênio, temperatura, umidade, pH e fertilização nitrogenada (BERG; ROSSWALL, 1985; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Por esse motivo, esse grupo torna-se um potencial indicador de distúrbios no ambiente, uma vez que as bactérias nitrificantes possuem pouca redundância com outros grupos fisiológicos e são dependentes da matéria orgânica (PROSSER, 2005; STENBERG, 1999).

Os dados apresentados aqui mostram que os NMPs de NITRI e NITRA foram positivamente relacionados às áreas FN e ND (PETAR) e PF (PECJ) que apresentaram um pH mais elevado (Figuras 2.7A, 2.7B, 2.8A e 2.8B, Apêndices E e F), e também que houve correlação positiva entre as variáveis microbiológicas NITRI e NITRA. As bactérias nitrificadoras, capazes de transformar amônia em nitrito, são em sua maior parte dos gêneros *Nitrospira* e *Nitrosomonas* (HEAD et al., 1993, PROSSER, 2005), enquanto que as bactérias nitrificadoras, que transformam o nitrito a nitrato, pertencem em sua maioria ao gênero *Nitrobacter* (TESKE et al., 1994, PROSSER, 2005). Por meio do NMP foi visto que em solos ácidos sob vegetação nativa os números de bactérias nitrificantes são menores do que quando comparados aos de solos neutros ou alcalinos em ambientes agrícolas (DE BOER et al., 1992; STAMS et al., 1990; CARNOL; INESON, 1999; HASTINGS et al., 2000). Essa diferença deve ser ocasionada pelo pH e não pelo manejo, ou seja, ambientes naturais com pH elevado possuem a quantidade de nitrificantes na mesma proporção de solo agrícola com pH elevado (STIENSTRA et al. 1994, PROSSER, 2005). Desse modo,

essa trabalho também mostra que os NMPs de NITRI e NITRA foram mais influenciados pela diferença de pH entre as áreas do que pelos tipos de impactos sofridos pelas áreas avaliadas.

Outro grupo funcional ligado à transformação do N no solo, os desnitrificantes (DESN), foram positivamente relacionados à CBM, às variáveis ambientais NT e COT e às áreas PL (PETAR) e PF (PECJ) (Figuras 2.7A, 2.7B, 2.8A e 2.8B). As bactérias desnitrificantes compõem acerca de 0.1 a 5 % do total de bactérias do solo, são anaeróbias facultativas e capazes de reduzir formas oxidadas de N a formas gasosas (N_2 e N_2O) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Algumas condições do solo, tais como, elevados teores de substratos orgânicos e a anaerobiose, podem aumentar as populações e a atividade dos desnitrificantes (PAGE-DUMROESE et al., 2010).

Assim, estudos realizados em áreas de pastagem com diferentes graus de impacto no solo provocado pela presença de gado mostraram que, nas áreas impactadas, o CBM, NT e COT foram maiores em relação à área controle e, além disso, foi constatado o aumento na abundância e na atividade dos desnitrificadores (CHROŇAKOVA et al., 2009). Segundo os autores as mudanças ocorridas na estrutura e no funcionamento microbiano do solo foram em decorrência dos distúrbios causados pelo pisoteio dos animais, que provocou a compactação e danos à cobertura vegetal do solo, e pelo depósito de excrementos, que aumentou a concentração de substratos orgânicos no solo (CHROŇAKOVA et al., 2009). Desse modo, tendo em vista que nas áreas PL (PETAR) e PF (PECJ) há o pastoreio e uma predominante presença de gramíneas, sugere-se que o pisoteio dos animais possa ter compactado o solo e, conseqüentemente, ter aumentado a quantidade de microssítios anaeróbios; também a liberação dos exsudatos pelas raízes de gramíneas, com o aumento de substratos de fácil decomposição, assim como a presença de excrementos que foram detectados visualmente, podem ser possíveis causas para a relação positiva entre DESN, COT, NT e CBM nessas áreas.

É importante salientar que a contagem microbiana é dependente do cultivo dos micro-organismos. Dessa forma, o valor de NMP obtido por métodos culturais é sempre subestimado quando comparado com métodos moleculares. No entanto, tendências entre os micro-organismos cultiváveis podem ser observadas, o que pode fornecer informações úteis sobre os efeitos de distúrbios do solo nessas populações microbianas e ser de

utilidade na comparação de diferentes usos do solo (DEGRANGE; BARDIN 1995, PHILLIPS et al. 2000).

As enzimas desidrogenase, fosfatase ácida e β -glicosidase se relacionaram tanto com as áreas impactadas como com as não impactadas, exceto a arilsulfatase, que se relacionou somente com as áreas impactadas no PETAR (PL) e PECJ (PF e ND) (Figuras 2.7A, 2.7B, 2.8A e 2.8B). A arilsulfatase tem a função de mineralizar o S-orgânico no solo e pode ter sua atividade influenciada pela variação na profundidade, teor de carbono, nitrogênio e pela capacidade de troca catiônica do solo (TABATABAI; BREMNER, 1970; COOPER, 1972; SPEIR, 1977). A arilsulfatase foi positivamente relacionada à CTC. Resultados semelhantes foram encontrados por Appiah e Ahenkorah (1989) sendo que a atividade da arilsulfatase foi correlacionada positivamente à CTC do solo. Os colóides com altas concentrações de cátions podem favorecer maiores quantidades de nutrientes aos micro-organismos e conseqüentemente estimular a atividade da arilsulfatase. Alguns autores também encontraram relações positivas entre a atividade da arilsulfatase e COT e NT (TABATABAI; BREMNER, 1970; COOPER, 1972; SPEIR, 1977). Por outro lado, outros autores não encontraram qualquer relação dessa enzima com os atributos físico-químicos do solo (TABATABAI; BREMER, 1970; PERUCCI; SCARPONI, 1983).

Como foi visto por Floch et al. (2009), as propriedades químicas e físicas do solo foram as principais variáveis que influenciaram a atividade da arilsulfatase. Segundo esse autor, a atividade dessa enzima foi pouco influenciada pelo manejo, e esta não se mostrou interessante como potencial indicador de qualidade do solo. No entanto, na tese em discussão, uma vez que a atividade da arilsulfatase se relacionou às áreas impactadas nos períodos avaliados, apesar de no PECJ ter se relacionado a áreas diferentes nos períodos seco e chuvoso, esta pode ser sugerida como um potencial indicador de qualidade do solo em florestas de araucária.

2.3 Conclusão

As variáveis microbiológicas apresentam-se como potenciais indicadores de qualidade do solo, uma vez que se mostraram sensíveis a interferência antrópica ocorrida

nas áreas com floresta de araucária. Os bioindicadores para tal interferência foram o quociente microbiano, o carbono da biomassa, a atividade da arilsulfatase e o número mais provável de desnitrificantes, que se mostraram correlacionados positivamente às áreas de PL no PETAR e PF no PECJ, exceto a arilsulfatase, a qual se relacionou a outra área impactada, a ND, no período chuvoso. Entretanto, nenhuma das variáveis microbiológicas avaliadas foi capaz de se relacionar, durante os períodos de seca e chuva, às áreas ND nos dois parques e ao PL no PECJ, então, abre-se a oportunidade de se fazer novas avaliações utilizando outras variáveis microbiológicas que possam melhor responder as modificações ocorridas em especial nessas áreas. O nitrogênio total esteve relacionado positivamente ao carbono da biomassa microbiana e aos desnitrificantes, durante os períodos seco e chuvoso nos parques avaliados, por isso sugere-se como potencial indicador de qualidade químico do solo. A análise multivariada foi uma ferramenta útil para o entendimento da relação entre as variáveis ambientais e microbiológicas, mostrando as diferenças existentes entre as áreas com floresta de araucária natural e impactada durante o período seco e chuvoso e, além disso, a decomposição da variabilidade mostrou que os atributos microbiológicos sofrem maior influência das propriedades físico-químicas do solo do que pelas áreas e épocas de coleta.

Referências

- ALEF, K. Estimation of microbial activities. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods In Applied Soil Microbiology and Biochemistry**, London, cap. 5, p. 228-231, 1995.
- ANDERSON, T.H. Physiological analysis of microbial communities in soil: applications and limitations. In: RITZ, K.D.; GILLER, K.E. (Ed.). **Beyond the biomass**. London: British Society of Soil Science, 1994. p. 67-76.
- ANDERSON, T.H. Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 98, n. 2, p. 285-293, 2003.
- ANDERSON, T.H. Microbial biomass in broad-leaved forest soils. In: BRUMME, R., KHANNA, P.K. (Ed.). **Functioning and management of european beech ecosystems**. Berlin:Springer, 2009. p. 389-403. (Ecological Studies, 208).
- ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 21, p. 471-479, 1989.

ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. Application of eco-physiological quotients (qCO_2 and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 251-255, 1990.

ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO_2 (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.25, p.393-395, 1993.

ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. Soil microbial biomass: The eco-physiological approach. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, p. 2039 – 2043, 2010.

APPIAH, M.R.; AHENKORAH, Y. Arylsulphatase activity of different latosol soils of Ghana cropped to cocoa (*Theobroma cacao*) and coffee (*Coffea canephora* var. *robusta*). **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 7, p. 186-190, 1989.

BACKES, A.; PRATES, F.L.; VIOLA, M.G. Produção de serapilheira em Floresta Ombrófila Mista, em São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 19, p. 155-160, 2005.

BAI, Z.G.; DENT, D.L.; OLSSON, L.; SCHAEPMAN, M.E. **Global assessment of land degradation and improvement**. 1: Identification by remote sensing. Wageningen: ISRIC – World Soil Information, 2008. p. 78 (Report 2008/01).

BALDOCCHI, D.D.; TANG, J.; XU, L. How switches and lags in biophysical regulators affect spatio-temporal variation of soil respiration in an oak-grass Savanna. **Biogeosciences**, Gottingen, v.111, p. 1-13 2006.

BANCO REGIONAL DE DESENVOLVIMENTO DO EXTREMO SUL - BRDE. Agência de Florianópolis. Gerência de Planejamento. **Cultivo da Araucaria angustifolia: Journal Geophysical Research**. análise de viabilidade econômico-financeira. Florianópolis: BRDE, 2005. 53 p.

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

BARETTA, D.; BARETTA, C.; CARDOSO, E. MULTIVARIATE ANALYSIS OF SOIL MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL ATTRIBUTES IN FORESTS WITH ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA. **Revista Brasileira de Ciência Do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 2683-2691, 2008.

BERG, P.; ROSSWALL, T. Ammonium oxidizer numbers, potential and actual oxidation rates in 2 swedish arable soils. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 1, n. 3, p. 131-140, 1985.

CALDEIRA, M.V.W.; WATZLAWICK, L.F.; SOARES, R.V.; VALÉRIO, A.F. Teores de micronutrientes em espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Mista Montana - General Carneiro/PR. **Ambiência - Revista do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais**: Guarapuava, v. 2, n. 1, p. 29-50, 2006.

CARDOSO, E.J.B.N. **Biodiversidade vegetal e de organismos edáficos em ecossistemas de *Araucaria angustifolia* naturais e impactados no Estado de São Paulo**. Piracicaba: ESALQ, 2004. 23p. Projeto temático versão equipe processo FAPESP 01/05146-6.

CARNOL, M.; INESON, P. Environmental factors controlling NO₃- leaching, N₂O emissions and numbers of NH₄⁺ oxidisers in a coniferous forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 7, p. 979-990, 1999.

CASIDA Jr., L.E.; KLEIN, D.A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, Philadelphia, v.98, p.371-376, 1964.

CASTELLA, P.R.; BRITEZ, R.M. **A floresta com Araucária no Paraná: conservação e diagnóstico dos remanescentes florestais**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004. 233 p.

CHOROMANSKA, U.; DELUCA, T.H. Prescribed fire alters the impact of wildfire on soil biochemical properties in a ponderosa pine forest. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, n. 1, p. 232-238, 2001.

CHRONAKOVA, A.; RADL, V.; ČUHEL, J.; ŠIMEK, M.; ELHOTTOVÁ, D.; ENGEL, M.; SCHLOTER, M. Overwintering management on upland pasture causes shifts in an abundance of denitrifying microbial communities, their activity and N₂O-reducing ability. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 41, n. 6, p. 1132-1138, 2009.

COOPER, P.J.M. Arylsulphatase activity in Northern Nigerian soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 4, p. 333-337, 1972.

CORRÊA, P.R.R. Legislação é incapaz de conter o Desmatamento: o exemplo da Araucária. Disponível em:
<<http://noticias.ambientebrasil.com.br/artigos/2010/06/02/55450-legislacao-e-incapaz-de-conter-o-desmatamento-o-exemplo-da-araucaria.html>>. acesso em: 20 nov 2010.

DE BOER, W.; TIETEMA, A.; KLEIN GUNNEWIEK, P.J.A.; LAANBROEK, H.J. The chemolithotrophic ammonium-oxidizing community in a nitrogen-saturated acid forest soil in relation to pH-dependent nitrifying activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 24, p. 229-234, 1992.

DEGRANGE, V.; BARDIN, R. DETECTION AND COUNTING OF NITROBACTER POPULATIONS IN SOIL BY PCR. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, n. 6, p. 2093-2098, 1995.

DICK, R.P. A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 40, p. 25-36, 1992.

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

DORAN, J.L.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STAWART, B.A. Defining soil quality for a sustainable environment. **Soil Science Society of America**. Madison, p. 3-21, 1994.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro, 2006. 306 p.

FIALHO, J.S.; GOMES, V.F.F.; OLIVEIRA, T.S.; SILVA JUNIOR, J.M.T. Indicadores da qualidade do solo em áreas sob vegetação natural e cultivo de bananeiras na Chapada do Apodi-CE. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.37, p.250-257, 2006.

FLOCH, C.; CAPOWIEZ, Y.; CRIQUET, S. Soil Enzyme activities in apple orchard agroecosystems: How are they affected by management strategy and soil properties **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 41, p. 61–68, 2009.

GEE, G.W.; OR, D. Particle-size analysis. In: DANE, J.H.; TOPP, G.C. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 3rd ed. Madison: Soil Science Society of America, 2002. pt. 4: Physical methods, p. 255-293. (Book Series, 5).

GIL-SOTRES, F.; TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M.C.; SEOANE, S. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, n. 5, p. 877-887, 2005.

HASTINGS, R.C.; BUTLER, C.; SINGLETON, I; SAUNDERS, J.R.; MCCARTHY, A.J. Analysis of ammonia-oxidizing bacteria populations in acid forest soil during conditions of moisture limitation. **Letters in Applied Microbiology**, Malden, v. 30, n. 1, p. 14-18, 2000.

HEAD, I. M.; HIORNS, W.D.; EMBLEY, T.M.; MCCARTHY, A.J.; SAUNDERS, J.R. The phylogeny of autotrophic ammonia-oxidizing bacteria as determined by analysis of 16s ribosomal-rna gene-sequences. **Journal of General Microbiology**, Berks, v.139, p. 1147-1153, 1993.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS IBAMA. 1992. Listagem oficial das espécies vegetais brasileiras ameaçadas de extinção. Brasília, DF: MMA. Disponível em: < <http://www.ibama.gov.br/flora/extincao.htm> >. Acesso em: 28 nov. 2010.

JENKINSON, D.S.; LADD, J.N. Microbial biomass in soils: measurement and turnover. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N.(Ed.). *Soil biochemistry*, 5th ed. New York: Marcel Decker, 1981. p. 415-471.

JI PROSSER, NITROGEN IN SOILS | Nitrification. In: HILLEL, D. (Ed.). **Encyclopedia of Soils in the Environment**. Oxford: Elsevier, 2005, p. 31-39.

JIANG, J.P.; XIONG, Y.; JIANG, H.; YE, D.; SONG, Y; LI, F. Soil microbial activity during secondary vegetation succession in semiarid abandoned lands of loess plateau. **Pedosphere**, Beijing, v. 19, n. 6, p. 735-747, 2009.

JOERGENSEN, R.G. Quantification of the microbial biomass by determining ninhydrin-reactive N. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.28, n.3, p.301-306, 1996.

JOERGENSEN, R.G.; BROOKES, P.C. Ninhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0,5M K₂SO₄ soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, n.8, p.1023-1027, 1990.

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

LADEIRA, H.P. Quatro décadas de engenharia florestal no Brasil. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais, 2002. 207p.

LEGENDRE, P. Studying beta diversity: ecological variation partitioning by multiple regression and canonical analysis. **Journal of Plant Ecology**, Oxford, v. 1, p. 3–8, 2008.

LIU, Q. Variation partitioning by partial redundancy analysis (RDA). **Environmetrics**, Sussex, v. 8, p. 75-85, 1997.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 1992. 351p.

MATTOS, J.R. **O pinheiro brasileiro**. 2.ed. Santa Catarina: Princesa, 1994. v.1. 225p.

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

MERCANTE, F.M.; ZILLI, J.E. **Bioindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais**: utopia ou realidade? Planaltina-DF:EMBRAPA CERRADOS, 2009. p.31.

METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; DIXO, M.; BERNACCI, L.C.; RIBEIRO, M.C.; TEIXEIRA, A.M.G; PARDINI, R. Time-lag in biological responses to landscape changes in a highly dynamic Atlantic forest region. **Biological Conservation**, Oxford, v. 142, p. 1166–1177, 2009.

NANNIPIERI, P.; KANDELER, E.; RUGGIERO, P. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In: BURNS, R.G.; DICK, R.P. (Ed.). **Enzyme in the Environment**. New York: Marcel Dekker, 2002. chap. 1, p. 1-33.

ODUM, E.P. The strategy of ecosystem development. **Science**, Washington, v.164, p.262-270, 1969.

PAGE-DUMROESE, D.; NEARY, D.; TRETTIN, C. Scientific background for soil monitoring on National Forests and Rangelands: workshop; April 29-30, 2008. Denver. **Proceedings...** RMRS-P-59. Fort Collins: U.S. Department of Agriculture; Forest Service, Rocky Mountain Research Station. tech. (Ed.). 2010. 126 p.

PERUCCI, P.; SCARPONI, L. Effect of crop residue addition on arylsulphatase activity in soils **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 73, p. 323-326, 1983.

PHILLIPS, C.J; PHILLIPS, C.J; HARRIS, D.; DOLLHOPF, S.L.; GROSS, K.L.; PROSSER, J.I.; PAUL, E.A. Effects of agronomic treatments on structure and function of ammonia-oxidizing communities. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, p. 5410-5418, 2000.

POWLSON, D.S.; BROOKES, P.C.; CHRISTENSEN, B.T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, p.159-164, 1987.

RAIJ, B. VAN; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H.; ANDRADE, J.C. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2001. 284 p.

ROBIM, M.J.; PASTORE, J.A.; AGUIAR, O.T.; BAITELLO, J.B. Flora arbóreo arbustiva e herbácea do Parque Estadual de Campos do Jordão (SP). **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.2, p. 31-53, 1990.

SANTOS, M. Força Verde localiza armazenamento ilegal de madeiras e queima de carvão, em Guarapuava. Disponível em: <<http://www.policiamilitar.pr.gov.br/modules/noticias/makepdf.php?storyid=2337>> Acesso em: 21 nov. 2010.

SARATHCHANDRA, S.V. Nitrification activities and the changes in the population of nitrifying bacteria in soil perfused with two different H-ion concentrations. **Plant and Soil**, Dordrecht, n. 50, p. 99-111, 1978.

SCHMIDT, E.L.; BELSER, L.W. Autotrophic nitrifying bacteria. In: WEAVER, R.W. et al., Methods of soil analysis. Part 2: Microbiological and biochemical properties. **Soil Science Society American**. Madison, p. 159-177, 1994.

SHAW, C.H.; SHAW, C.H.; LUNDKVIST, H.; MOLDENKE, A.; BOYLE, J.R. THE Relationships of soil fauna to long-term forest productivity in temperate and boreal ecosystems - processes and research strategies. **Long-term field trials to assess environmental impacts of harvesting**, Rotorua, v. 161, p. 39-77, 1991.

SHIMIZU, J.Y.; OLIVEIRA, Y.M.M. Distribuição, variação e usos dos recursos genéticos da araucária no sul do Brasil. EMBRAPA, URPFCs, 1981. 13 p.

SPARLING, G.P. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE B.M.; GUPTA, V.V.S.R. **Biological indicators of soil health**, Cambridge: CAB International, 1997. p. 97-119.

SPEIR, T.W. Studies on a climosequence of soils in tussock grassland: II. Urease, phosphatase and sulphatase activities of topsoils and their relationships with other properties including plant available sulphur. **New Zealand Journal of Science**, Wellington, v. 20, p.159-166, 1977.

STAMS, A.J.M.; FLAMELING, E.M.; MARNETTE, E.C.L. The importance of autotrophic versus heterotrophic oxidation of atmospheric ammonium in forest ecosystems with acid soil. **Fems Microbiology Ecology**, Malden, v. 74, p. 337-344, 1990.

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

STIENSTRA, A.W.; GUNNEWIEK, P.K.; LAANBROEK, H.J. Repression of nitrification in soils under a climax grassland vegetation. **Fems Microbiology Ecology**, Malden, v. 14, p. 45-52, 1994.

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: WEAVER, R.W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.S.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. pt 2: Microbiological and biochemical properties. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 778-833.

TER BRAAK, C.J.F.; SMILAUER, P. **CANOCO Reference manual and user's guide to Canoco for Windows**: Software for Canonical Community Ordination (Version 4.0). New York: Microcomputer Power, 2002. 353 p.

TESKE, A.; ALM, E.; REGAN, J.M.; TOZE, S.; RITTMANN, B.E.; STAHL, D.A. Evolutionary relationships among ammonia-oxidizing and nitrite-oxidizing bacteria. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 176, n. 21, p. 6623-6630, 1994.

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

ULBRICH, A.V.; LEITE, C.R.F.; SOUZA, J.R.P.; ANDRADE, D.S. Ação do imazapic+imazapyr sobre a tiririca (*Cyperus rotundus*) e os desnitrificadores em milho. **Planta Daninha**, Londrina, v.22, n.4, p. 577-582, 2004.

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

ZAR, J.H. Biostatistical Analysis. 3rd ed. New Jersey;Upper Saddle River:Prentice-Hall International, 1996.p. 662.

3 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS MICROBIANO E BIOLOG COMO BIOINDICADORES DO SOLO EM FLORESTAS DE ARAUCÁRIA

Resumo

A Floresta de Araucária foi intensamente explorada entre as décadas de 1930 e 1970, levando a *Araucaria angustifolia* à categoria de extinção. Assim, torna-se necessário e imprescindível o estudo da qualidade do solo nesse ecossistema, a fim de se obter parâmetros físicos, químicos e principalmente microbiológicos, para juntamente com outras áreas da ciência, tentar reverter esse quadro de degradação. A hipótese é que o EL-PLFA e o Biolog serão sensíveis para identificar condições de estresse em diferentes áreas com florestas de Araucária. O objetivo foi identificar quais seriam os indicadores microbiológicos que melhor responderiam às alterações ocorridas em ecossistemas com araucária, por meio dos métodos de diversidade estrutural (EL-PLFA) e funcional (Biolog). Foram escolhidas três áreas dentro do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR): FN – floresta nativa de araucária, ND – floresta de araucária com distúrbio antropogênico e PL – plantio de araucária; e quatro áreas foram selecionadas no Parque Estadual de Campos do Jordão: FN – floresta nativa de araucária, ND – floresta de araucária com distúrbio antropogênico, PL – plantio de araucária e PF – plantio de araucária com ocorrência de fogo accidental. A coleta ocorreu em duas épocas distintas, período de seca e chuva. Realizaram-se as análises EL-PLFA, Biolog e atributos físico-químicos do solo. Foram identificados perfis de ácidos graxos semelhantes aos aqui obtidos, no PETAR e no PECJ, e em um trabalho anterior no PECJ, o que pode ser indicação de um padrão de EL-PLFA próprio do ecossistema de araucária. Tanto o EL-PLFA como o Biolog apresentaram tendências semelhantes na separação entre as áreas, no entanto, o EL-PLFA foi mais discriminatório. A variabilidade dos dados de EL-PLFA e Biolog foram muito bem explicados pelas variáveis ambientais nos períodos de seca e chuva. Os ácidos graxos 10Me18:0 (actinobactéria), a relação ácido graxo insaturado/saturado (sat/insat), o consumo dos substratos β -metil-D-glicosídeo e o ácido 2-hidroxibenzóico foram também relacionados às áreas PL (PETAR) e PF (PECJ) nos períodos avaliados. Já os ácidos graxos 18:1 ω 9c (fungo) e 16:1 ω 7c (bactéria Gram-), e o consumo dos substratos glicose-1-fosfato, α -D-lactose e ácido γ -hidroxibutírico igualmente estiveram relacionados às áreas impactadas dos dois parques durante os períodos de seca e chuva. Portanto, esses atributos microbiológicos são potenciais bioindicadores de qualidade do solo em Florestas de Araucária, e por isso são merecedores de atenção para futuros programas de monitoramento de qualidade do solo nesse ecossistema.

Palavras-chave: Qualidade do solo; Análise de redundância; Diversidade estrutural; Diversidade funcional

Abstract

The Araucaria forest was severely exploited in the 1930s and 1970s, and, consequently, the species *A. angustifolia* is being considered as critically endangered of extinction. Thus, it is necessary and indispensable to study the soil quality in this ecosystem, in order to obtain physical-chemical proprieties and mainly microbiological attributes, to contribute in the recuperation of degraded areas together with other research lines. The hypothesis is that the EL-PLFA and Biolog will be sensitive to identify stress conditions in different areas with Araucaria forests. The aim was to identify which microbiological indicators are the most responsive to alterations in the Araucaria ecosystems, the methods of structural diversity (EL-PLFA) or of functional diversity (Biolog). Three areas were surveyed in PETAR: FN – Native Araucaria forest, ND – Native Araucaria forest with anthropogenic disturbance, and PL – Reforested Araucaria; and four areas in PECJ: FN – Native Araucaria forest, ND – Native Araucaria forest with anthropogenic disturbance; PL – Reforested Araucaria, and PF – Araucaria plantation submitted to intense accidental fire. The data were collected in two different seasons (dry and wet). EL-PLFA, Biolog and physical-chemical soil attributes were analyzed. We identified fatty acid profiles similar in PETAR, PECJ and on earlier work in PECJ, which could indicate a pattern of EL-PLFA common in ecosystem Araucaria. The EL-PLFA and Biolog showed similar tendency in the separation between the areas, however, the EL-PLFA was the most discriminatory. The variability of the EL-PLFA and Biolog data were well explained by environmental variables in dry and wet periods. The fatty acid 10Me18:0 (actinobacteria), the saturated/unsaturated fatty acid ratio (sat/insat), the substrate utilization β -methyl-D-glucoside and 2-hydroxybenzoic acid were also related to the PL (PETAR) and PF (PECJ) areas, in both periods. The 18:1 ω 9c fatty acid (fungi) and 16:1 ω 7c (Gram-), the glucose-1-phosphate, α -D-lactose and γ -hydroxybutyric acid were C-source for microbial communities of the impacted areas in two parks during the dry and wet periods. Therefore, it are potential bioindicators of soil quality in Araucaria forests, for that reason, deserve attention for future monitoring programs of soil quality in this ecosystem.

Keywords: Soil quality; Redundancy analysis; Structural diversity; functional diversity

3.1 Introdução

A Floresta Atlântica é um dos 25 “hotspots” de biodiversidade no mundo, com uma área que compreende por volta de 12 % da floresta original, nela encontrando-se aproximadamente 2,7 % das plantas e 2,1 % dos vertebrados endêmicos do mundo (MITTERMEIER et al., 1998; MYERS, 2000; RODRIGUES et al., 2009). Dentro da Floresta Atlântica está inclusa a formação chamada Floresta Ombrófila Mista também conhecida como Floresta de Araucária (SHIMIZU; OLIVEIRA, 1981; BRDE, 2005). A Floresta de Araucária, até a década de 70, foi intensamente desmatada, sendo a espécie *Araucaria angustifolia*, o principal produto florestal de exportação (SHIMIZU; OLIVEIRA, 1981; BRDE, 2005). Dessa forma, dos quase 185.000 km² originais restaram aproximadamente 3 %, sendo compostos por pequenos e, em muitas vezes, isolados fragmentos (MACHADO; SIQUEIRA, 1980; BRDE, 2005; RODRIGUES et al., 2009). Como medida de proteção ambiental a *Araucaria angustifolia* foi considerada como ameaçada de extinção pelo IBAMA (IBAMA 1993).

A interferência antrópica, com a eliminação ou substituição da vegetação nativa por outras culturas, tem levado grande parte dos solos mundiais à degradação (BAI et al., 2008). No Brasil, por exemplo, durante o período de 1981 a 2003, aproximadamente 22 % do solo foram degradados, considerando em nível global isso representa quase 5 % do solo degradado (BAI et al., 2008). Em vista disso e considerando o solo como base para sustentar a produção biológica, manter a qualidade ambiental e promover a saúde animal e vegetal em ecossistemas terrestres, tornou-se de grande relevância buscar seu uso sustentável, garantindo seu bom funcionamento no presente e futuro (DORAN, PARKIN, 1994).

Assim, a avaliação da qualidade do solo é necessária e, para isso, é primordial a utilização de indicadores que apontem de forma rápida e precisa as interferências antrópicas ocorridas no ambiente (BURGER, 1996). Desse modo, o desafio consiste em conseguir indicadores de qualidade do solo que sejam medidos de maneira simples e confiável, uma vez que a complexidade das interações existentes no solo, envolvendo os fatores químicos, físicos e biológicos, dificulta acessar e identificar os atributos que melhor respondam as intervenções antrópicas (TOTÓLA; CHAER, 2002; VEZZANI;

MIELNICZUK, 2009; PAGE-DUMROESE, 2010; MENDES et al., 2009). Entretanto, tem havido um crescente interesse em se estudar os micro-organismos do solo, porque a microbiota, sendo a parte viva e mais ativa da matéria orgânica, é extremamente importante nos processos de decomposição dos resíduos orgânicos, formação da matéria orgânica e estrutura do solo, ciclagem de nutrientes, fixação biológica do nitrogênio, associações mutualistas com as plantas, decomposição de minerais, atuando também em processos de biorremediação de pesticidas e metais pesados (POWLSON; JENKINSON, 1981; ARIAS et al., 2005; MELLONI, 2007). Por esse motivo os indicadores microbiológicos juntamente com os químicos e físicos devem ser utilizados para se avaliar a qualidade do solo (GARCÍA et al., 1994; HALVORSON et al., 1996; BASTIDA et al., 2008).

Como é relativamente recente o interesse pela qualidade do solo, ainda são incipientes as informações sobre esse assunto. Ainda assim, os trabalhos buscam indicadores microbiológicos que sejam capazes de avaliar a sustentabilidade dos sistemas de produção agrícolas e em alguns casos os florestais (CHAER; TÓTOLA, 2007; MENDES et al., 2009), contaminação do solo por xenobióticos e metais pesados (AVIDANO, et al., 2005; CHEN et al., 2006), e poucos são os estudos que abordam o tema “qualidade do solo” por meio da diversidade estrutural e funcional (MELLONI, 2007).

O perfil de ácidos graxos ligados a ésteres de fosfolipídios (EL-PLFA) e o perfil de consumo de fontes de carbono pelos micro-organismos (Biolog) são métodos que podem ser utilizados para avaliar a diversidade estrutural e funcional (ZELLES, 1999; GARLAND, 1997). O EL-PLFA é um método rápido e de baixo custo que pode ser utilizado como biomarcador para grupos microbianos específicos, sendo útil para descrever a diversidade e estrutura da comunidade microbiana, fornecendo informações sobre a modificação sofrida pela comunidade microbiana em decorrência da alteração do ambiente (BOSSIO et al., 1998; HAMMAN et. al., 2007; GARTZIA-BENGOETXEA et al., 2009; ZHONG et al., 2010). Contudo, o EL-PLFA não responde em termos de funcionalidade, assim o Biolog é capaz de analisar o potencial metabólico da porção cultivável da comunidade microbiana, ou seja, é capaz de detectar mudanças na habilidade da comunidade microbiana em degradar diferentes fontes de substratos

de carbono. O Biolog é um método rápido e de fácil manuseio, tem se mostrado muito sensível aos impactos provenientes das práticas de manejo, aplicação de lodo de esgoto no solo e excrementos de animais (BENDING et al., 2000; BURGESS et al., 2001; ZHONG et al., 2010).

Desse modo, em vista da atual condição de extinção da *Araucaria angustifolia* e da possível perda da biodiversidade desse ecossistema (METZGER et al., 2009), é de extrema importância conhecer os serviços ambientais prestados pelos micro-organismos, uma vez que a comunidade microbiana é essencial na decomposição e mineralização dos resíduos vegetais e animais no solo, por isso indicadores sensíveis às modificações do ambiente podem ser identificados. Portanto, o objetivo foi avaliar a comunidade microbiana por meio da diversidade funcional (Biolog) e pelo perfil de ácidos graxos (EL-PLFA), e identificar os bioindicadores de qualidade do solo em ecossistemas de araucária com interferência antrópica.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Material e métodos

Descrição das áreas de estudo

A descrição das áreas estudadas, o esquema de coleta e avaliação dos atributos físicos e químicos do solo foram apresentados no item 2.2.1 desse documento.

As amostras foram homogeneizadas, passadas por uma peneira de malha 2 mm, e posteriormente, foram feitas amostras compostas a partir de três amostras simples. Dessa forma, as 15 amostras provenientes de cada área foram reduzidas a cinco amostras por área. As amostras foram armazenadas a -80 °C para o EL-PLFA, e para o Biolog a 7 °C $\pm$ 3 °C até a realização dos ensaios.

Extração e quantificação dos perfis fosfolipídicos (EL-PLFA)

A estrutura da comunidade microbiana do solo foi caracterizada pela extração e análise dos ácidos graxos ligados a ésteres de fosfolipídios (EL-PLFAs). Os lipídios foram extraídos a partir de 3 g de solo (estocado a -80 °C) com uma solução de clorofórmio/metanol/tampão fosfato (pH ≈ 7.4) (1:2:0.8 v/v/v) (WHITE, et al., 1979). Os fosfolipídios retidos na fase clorofórmio foram fracionados em uma coluna polar de sílica por meio de uma diluição sequencial com clorofórmio, acetona e metanol (PETERSEN et al., 1997). Então, os fosfolipídios foram submetidos a uma metólise em meio alcalino utilizando uma solução de metanol:tolueno (1:1 v/v) e KOH (0,2 M) a fim de separar os ácidos graxos. Os ácidos graxos foram particionados numa fase orgânica pela adição de hexano, o qual foi removido a partir da fase aquosa depois da centrifugação a 1500 rpm por 10 min.. O ácido graxo 19:0 foi utilizado como padrão interno, 10 µg de 19:0 foi colocado em cada amostra, depois o hexano foi evaporado com nitrogênio. Os ácidos graxos foram ressuspensos em hexano e as amostras foram analisadas por cromatografia gasosa (CG) (GC-C/TC DELTA ^{PLUS} XP THERMO SCIENTIFIC) no Department of Agronomy and Range Science – University of California - Davis. A coluna utilizada no CG foi CP-8822 (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 µm film; VARIAN INC.). O detector de ionização de chama (FID) foi aquecido a uma temperatura de 250 °C usando o hidrogênio como gás carreador a um fluxo de 0.4 mL.min⁻¹. Para limpar a coluna do GC, entre as corridas das amostras, programou-se a temperatura do forno a 60 °C por 10 min., seguida por uma rampa de aquecimento de 10 °C até 150 °C, com 2 min. de retenção, seguida por uma rampa de aquecimento final de 10 °C até 280 °C, com 5 min. de retenção. Cada amostra foi aplicada em duplicata no GC. A identificação individual dos EL-PLFAs foi baseada no tempo de retenção versus o padrão interno (19:0) e confirmado com os padrões de referência do laboratório da UC-Davis. O pico de cada EL-PLFA foi convertido em ηmolC-PLFA.g⁻¹ solo (biomassa microbiana -C-PLFA), utilizando a seguinte equação:

$$\text{nmol EL-PLFA.g}^{-1} \text{ solo} = \frac{\text{EL-PLFA pico área}}{\text{19:0 pico área}} \times \frac{\text{19:0 massa (ng)}}{\text{EL-PLFA PM (ng.nmol}^{-1})} \times \frac{1}{\text{solo seco (g)}} \quad \text{Eq.(3.1)}$$

Os biomarcadores de grupos funcionais específicos foram identificados da seguinte forma: bactérias Gram-positivas (a15:0, i15:0, i16:0, a17:0, i17:0, 15:0 3OH e i17:1) (ZAK et al., 1996; BOSSIO; SCOW, 1998), bactérias Gram-negativas (16:1 ω 7c, cy17:0, cy19:0 e 16:1 2OH) (PAUL; CLARK, 1996; ZAK et al., 1996, STROMBERGER et al., 2007), actinobactérias (10Me18:0) (KROPPESTEDT, 1985), fungos (18:2 ω 6c e 18:1 ω 9c) (VESTAL; WHITE, 1989; PAUL; CLARK, 1996; ZAK et al., 1996; BOSSIO; SCOW, 1998; STEENWERTHA et al., 2002) e fungo micorrízico arbuscular (16:1 ω 5c) (OLSSON et al., 1995). Algumas relações foram utilizadas como indicadores de stress, são elas: relação fungo/bactéria (fung/bac) (18:2 ω 6c / i15:0 + a15:0 + i16:0 + i17:1 + i17:0 + a17:0 + cy17:0 + cy19:0), monoinsaturado total/saturado total (mono/sat) (16:1 ω 7c + 18:1 ω 9c + 16:1 ω 5c + 18:1 ω 5c / 16:0 + 18:0), saturado/insaturado (sat/insat) (16:0 + 18:0 / 16:1 ω 7c + 16:1 ω 5c + 18:1 ω 9c + 18:1 ω 5c + 18:2 ω 6c) e bactéria Gram-negativa/bactéria Gram-positiva (G-/G+) (16:1 ω 7c + cy17:0 + cy19:0 + 16:1 2OH / i15:0 + a15:0 + i16:0 + i17:1 + 15:0 3OH + i17:0 + a17:0) (BOSSIO; SCOW, 1998). Para compor a relação fung/bac foi escolhido somente o 18:2 ω 6c, principalmente por ser conhecida correlação desse ácido graxo com a quantidade de ergosterol (FROSTEGÅRD; BÅÅTH, 1996), composto típico dos fungos.

Capacidade de consumo de substratos de carbono (Biolog)

O perfil de consumo de fontes de carbono pelos micro-organismos foi avaliado mediante o uso do kit Ecoplate® da empresa BIOLOG (Biolog, Hayward, CA, USA). Cada placa contém 31 fontes de carbono e um controle sem fonte de carbono, em triplicata, totalizando 96 poços por placa e um poço controle sem fonte de carbono. Antes de se proceder à inoculação nas placas de Biolog, a concentração do inóculo foi estimada pela determinação do Número Mais Provável (NMP) de bactérias totais, em meio ágar-nutriente, incubado por 48 horas, a 25° C (JHANEL et al., 1999).

Uma alíquota de 120 μ L de suspensão do solo diluída correspondente a uma concentração em torno de 10^3 células.mL⁻¹ foi inoculada em cada um dos 96 poços, com o auxílio de uma pipeta multicanal. Logo após a inoculação, foi realizada em cada placa a leitura da absorbância (tempo zero) a 590 nm, sendo posteriormente incubadas

a 28 °C e lidas novamente com 150 h. Foi usado um leitor de placas automático (Model 550, Biorad Laboratories, Hercules, CA, USA).

As fontes de carbono presentes nas placas Ecoplate® são agrupadas em função do grupo químico, como: Miscelânea (ácido pirúvico metil éster (M1), glicose-1-fosfato (M2), D,L- α -glicerol fosfato (M3)); Polímero (tween 40 (PO1), tween 80 (PO2), α -ciclodextrina (PO3), glicogênio (PO4)); Carboidratos (D-celobiose (C1), α -D-lactose (C2), β -metil-D-glicosídeo (C3), D-xilose (C4), l-eritritol (C5), D-manitol (C6), N-acetil-D-glicosamina (C7)); Ácido carboxílico (ácido D-glicosamínico (AC1), ácido D-galacturônico γ -lactona (AC2), ácido D-galacturônico (AC3), ácido 2-hidroxibenzóico (AC4), ácido 4-hidroxibenzóico (AC5), ácido γ -hidroxibutírico (AC6), ácido itacônico (AC7), ácido α -cetobutírico (AC8), ácido D-málico (AC9)); Aminoácido (L-arginina (AA1), L-asparagina (AA2), L-fenilalanina (AA3), L-serina (AA4), L-treonina (AA5), ácido glicil-L-glutâmico (AA6)) e Amina/Amida (feniletilamina (AM1) e putrescina (AM2)).

Análise estatística dos dados

Para avaliar a resposta do EL-PLFA e do Biolog em relação às propriedades químicas e físicas do solo, a análise de redundância (RDA) foi realizada por meio do programa Canoco versão 4.5 (TER BRAAK; SMILAUER, 2002). A RDA é uma análise de ordenação direta, nos quais a ordenação dos eixos é condicionada a combinações lineares das variáveis ambientais.

Antes de ser feita a RDA, a relação entre as variáveis microbiológicas e ambientais foram submetidos à Análise de Correspondência Retificada ou “Detrended Correspondence Analysis (DCA)”. A DCA mostrou que o comprimento do gradiente foi < 3 indicando que cada espécie assume uma resposta linear em relação ao gradiente (TER BRAAK; SMILAUER, 2002). Alguns atributos químicos e físicos do solo, que são variáveis explicativas, foram retirados da RDA por meio da ferramenta “forward selection” por apresentarem colinearidade. O teste de permutação de Monte Carlo foi feito para verificar a significância da variabilidade dos dados explicados ($p < 0,05$) (TER BRAAK, 2002) onde foram realizadas 999 permutações. A partir disso, a significância

das correlações sugeridas pela RDA foi também verificada por meio da correlação de Spearman ($p < 0,05$) (ZAR, 1996).

Os dados de PLFAs ($\eta\text{molC-PLFA.g}^{-1}$) foram analisados pela RDA depois de normalizados para mol % relativo e transformados para arco seno da raiz quadrada, usando o programa estatístico PC-ORD (MJM SOFTWARE, GLENEDEN BEACH, OR, 1999).

Os valores obtidos após a leitura da absorbância das placas de Biolog Ecoplates® (Biolog Inc., CA, USA) no tempo de 150h de crescimento foram corrigidos para a absorbância medida no tempo zero, e, em seguida, corrigidos também para a leitura dos poços controle (ausência de fontes de carbono). Posteriormente à correção dos dados, a Média do Desenvolvimento de Cor por Cavidade (MDCC) foi calculada, como se segue: $(L-B)/[\Sigma(L-B)/31]$, sendo L- a leitura das fontes no tempo 150 h, B – leitura do branco (poços controle sem fontes de carbono) (GARLAND; MILLS, 1991). O cálculo da MDCC é feito para cada fonte de carbono em cada placa e utilizado para a análise de RDA.

As variáveis químicas e físicas do solo foram submetidas à análise de variância (ANOVA two-way) utilizando-se o programa estatístico SISVAR versão 5.0 (FERREIRA, 2007), seguido pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparar as médias entre as áreas e épocas avaliadas.

3.2.2 Resultados

O perfil de EL-PLFAs e as variáveis ambientais, no PETAR, foram submetidos à análise de redundância (RDA). O teste de Monte Carlo revelou uma significativa relação entre EL-PLFAs e variáveis ambientais ($p < 0,05$) (Figuras 3.1A e 3.1B). No período seco as variáveis ambientais explicaram 75 % da variabilidade dos dados de EL-PLFAs. O primeiro eixo explicou 56,2 % e o segundo eixo 30 % da variabilidade dos dados (Figura 3.1A). Observou-se neste período uma alta correlação entre EL-PLFAs e as variáveis ambientais de 0,978. No período chuvoso, as variáveis ambientais explicaram 80,1 % da variabilidade dos dados de EL-PLFAs. O primeiro eixo explicou 71,8 % e o segundo 18,7 % da variabilidade dos dados PLFAs (Figura 3.1B) e constatou-se também uma alta

correlação entre EL-PLFAs e as variáveis ambientais de 0,959. A alta correlação entre EL-PLFAs e as variáveis ambientais indica que importantes variáveis ambientais foram medidas no PETAR nos períodos avaliados. Observa-se que as áreas FN, ND e PL se separaram formando agrupamentos distintos nos períodos seco e chuvoso. No entanto, percebe-se que as amostras de FN se agrupam mais próximas das de ND quando se comparam com PL no período seco. Assim, nota-se que as amostras de PL se agrupam mais distante das duas outras áreas (Figuras 3.1A e 3.1B).

A RDA é capaz de mostrar correlação positiva quando as setas apontam na mesma direção e correlação negativa quando as setas apontam em direção oposta. A ordenação dos EL-PLFAs indicou, tanto no período seco como no chuvoso, uma correlação positiva entre a FN e os EL-PLFAs biomarcadores para bactéria Gram-positiva (i15:0, a15:0, i17:1, i17:0, a17:0 e i16:0), para bactéria Gram-negativa (16:1 2OH) e a variável ambiental correlacionada foi o pH (Figuras 3.1A e 3.1B). Correlações significantes foram encontradas entre o pH e os EL-PLFAs i15:0 ($r_s = 0,510$, $p < 0,01$), a17:0 ($r_s = 0,696$, $p < 0,0001$), 16:1 2OH ($r_s = 0,726$, $p < 0,0001$) e a15:0 ($r_s = 0,852$, $p < 0,0001$). O a15:0 ($r_s = 0,494$, $p < 0,01$) e o a17:0 ($r_s = 0,374$, $p < 0,05$) foram positivamente relacionados ao P. Foram positivamente correlacionados ao teor de areia os EL-PLFAs a15:0 ($r_s = 0,735$, $p < 0,0001$), a17:0 ($r_s = 0,629$, $p < 0,001$) e 16:1 2OH ($r_s = 0,506$, $p < 0,01$) e foram negativamente relacionados ao teor de argila o a15:0 ($r_s = -0,7574$, $p < 0,0001$), a17:0 ($r_s = -0,6104$, $p < 0,001$) e 16:1 2OH ($r_s = -0,4653$, $p < 0,01$). O teor de silte não apresentou correlações significativas para esses ácidos graxos. Entretanto, o teor de silte apresentou correlação positiva com ácido graxo 15:0 3OH ($r_s = 0,4522$, $p < 0,01$) e negativa para cy19:0 ($r_s = -0,4122$, $p < 0,01$) e relação G-/G+ ($r_s = -0,5460$, $p < 0,01$).

A área ND foi positivamente correlacionada aos EL-PLFAs biomarcadores para bactérias Gram-negativas (cy17:0 e 16:1 ω 7c), à relação mono/sat e à variável ambiental P (Figuras 3.1A e 3.1B). O ácido graxo 16:1 ω 7c também apresentou correlação positiva, somente no período seco, com a área PL (Figura 3.1A). Foram significantes as correlações entre P e os EL-PLFAs cy17:0 ($r_s = 0,437$, $p < 0,05$) e 16:1 ω 7c ($r_s = 0,411$, $p < 0,05$). O ácido graxo cy17:0 foi correlacionado ao teor de areia ($r_s = 0,463$, $p < 0,01$) e argila ($r_s = -0,465$, $p < 0,01$).

O PL apresentou correlação positiva com as variáveis ambientais COT e teor de argila e com os ácidos graxos biomarcadores para actinobactérias (10Me18:0), fungo (18:1 ω 9c), bactérias Gram-negativas (cy19:0), fungo micorrízico arbuscular (16:1 ω 5c) e as relações indicadoras de estresse G-/G+, sat/insat e mono/sat (Figuras 3.1A e 3.1B). O ácido graxo 16:1 ω 5c e a relação mono/sat também se relacionaram à ND (Figuras 3.1A e 3.1B). A correlação de Spearman mostrou relações entre o teor de argila e os ácidos graxos 10Me18:0 ($r_s = 0,663$, $p < 0,0001$), 18:1 ω 9c ($r_s = 0,663$, $p < 0,0001$), cy19:0 ($r_s = 0,626$, $p < 0,001$), 16:1 ω 5c ($r_s = 0,427$, $p < 0,05$), relação fung/bac ($r_s = 0,458$, $p < 0,05$) e as relações indicadoras de estresse sat/insat ($r_s = 0,687$, $p < 0,001$) e G-/G+ ($r_s = 0,426$, $p < 0,05$).

O S apresentou relações com os ácidos graxos 18:1 ω 9c ($r_s = 0,663$, $p < 0,0001$), 10Me18:0 ($r_s = 0,650$, $p < 0,001$), cy19:0 ($r_s = 0,479$, $p < 0,01$), 16:1 ω 5c ($r_s = 0,396$, $p < 0,05$) e as relações G-/G+ ($r_s = 0,511$, $p < 0,01$), sat/insat ($r_s = 0,386$, $p < 0,05$) e fung/bact ($r_s = 0,533$, $p < 0,01$). O COT se relacionou ao 18:1 ω 9c ($r_s = 0,397$, $p < 0,05$) e à relação G-/G+ ($r_s = 0,506$, $p < 0,01$). O ácido graxo cy19:0 foi negativamente relacionado ao pH ($r_s = -0,574$, $p < 0,001$) assim como a relação fung/bac ($r_s = -0,584$, $p < 0,001$).

Figura 3.1 - Análise de redundância (triplo) (RDA) dos perfis de ácidos graxos ligados a ésteres de fosfolipídios (EL-PLFAs) no PETAR (Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira), variáveis ambientais (atributos químicos e físicos do solo), diferentes áreas e dois períodos; A) período seco (símbolos cheios) e B) período chuvoso (símbolos vazios); nas áreas: floresta nativa de araucária (FN), floresta de araucária com distúrbio antropogênico (ND) e plantio de araucária (PL) e variáveis ambientais: pH, fósforo (P), carbono orgânico total (COT), enxofre (S), teor de argila (Argila) e areia (Areia). Os símbolos maiores são os centróides para cada área

Os dados do perfil de EL-PLFAs no PECJ foram submetidos à análise de redundância (RDA) e ao teste de Monte Carlo que se mostrou estatisticamente significativo ($p < 0,05$) nas duas épocas avaliadas (Figuras 3.2A e 3.2B). As variáveis ambientais, no período seco, explicaram 63,4 % da variabilidade dos EL-PLFAs. O primeiro eixo explicou 74,5 % e o segundo eixo 20,4 % da variabilidade (Figura 3.2A), e encontrou-se uma alta correlação entre EL-PLFAs e as variáveis ambientais de 0,833. No período chuvoso as variáveis ambientais explicaram 67,4 % da variabilidade dos dados de EL-PLFAs. Foram explicados, no primeiro eixo, 77,6 % da variabilidade e, no segundo eixo, 17,6 % (Figura 3.2B). Também apresentaram uma alta correlação entre EL-PLFAs e as variáveis ambientais de 0,852. Da mesma forma que no PETAR, também foi encontrada no PECJ uma alta correlação entre EL-PLFAs e as variáveis ambientais, indicando que importantes variáveis ambientais foram avaliadas. Observa-se que houve nítida separação entre as áreas FN, ND, PL e PF, formando agrupamentos distintos nos períodos analisados e podemos constatar que FN esteve inteiramente separada das áreas impactadas. No período seco as amostras das áreas PL e ND se agruparam mais próximas entre si, enquanto que no período chuvoso as amostras das áreas PL e PF se agruparam mais próximas. Assim, sugere-se que o PL possui características microbiológicas e ambientais que são muito próximas às encontradas nas áreas ND no período seco e a PF no período chuvoso.

Observando-se as áreas durante os períodos seco e chuvoso constata-se que a FN se correlacionou positivamente com o biomarcador para bactérias Gram-negativas (16:1 2OH) e a variável ambiental teor de argila (Figuras 3.2A e 3.2B).

A área ND e PL se correlacionaram positivamente ao ácido graxo biomarcador para bactérias Gram-negativas (16:1 ω 7c) e à relação mono/sat, somente no período seco, sendo que no chuvoso a relação mono/sat esteve relacionado à ND e FN (Figuras 3.2A e 3.2B). O P foi significativamente relacionado ao ácido graxo 18:1 ω 9c ($r_s = 0,497$, $p < 0,01$) e negativamente ao i17:0 ($r_s = - 0,3923$, $p < 0,01$) e às áreas PF no período seco e ND no período chuvoso. O PL esteve correlacionado positivamente ao ácido graxo 16:1 ω 7c, que também foi relacionado à área ND, e à relação C/N somente no período seco, sendo que no período chuvoso a relação C/N foi relacionada à área FN (Figuras 3.2A e 3.2B). Foram obtidas correlações significantes entre a relação C/N e

15:0 3OH ($r_s = 0,315$, $p < 0,05$), cy17:0 ($r_s = 0,464$, $p < 0,01$) e 18:2 ω 6c ($r_s = 0,329$, $p < 0,05$). A área PF foi positivamente correlacionado aos EL-PLFAs biomarcadores para bactérias Gram-positivas (i16:0 e i15:0), actinobactérias (10Me18:0), relação sat/insat e à variável ambiental pH (Figuras 3.2A e 3.2B). O ácido graxo i15:0 e a relação sat/insat também foram correlacionados à PL, somente no período chuvoso (Figura 3.2B). As correlações entre pH e os ácidos graxos i16:0 ($r_s = 0,371$, $p < 0,05$), 10Me18:0 ($r_s = 0,347$, $p < 0,05$) e a relação sat/insat ($r_s = 0,480$, $p < 0,01$) foram significativas. O cy19:0 e a relação fung/bac não foram significativamente correlacionados ao pH ($r_s = -0,193$, $p = 0,2316$; $r_s = -0,285$, $p = 0,074$)

A correlação de Spearman revelou uma correlação negativa entre a relação G-/G+ e pH para o PETAR ($r_s = -0,513$, $p < 0,01$) e PECJ ($r_s = -0,403$, $p < 0,01$) e também entre a relação fung/bac e o teor de areia para PETAR ($r_s = -0,441$, $p < 0,05$) e PECJ ($r_s = -0,336$, $p < 0,05$).

Verificou-se que alguns ácidos graxos se relacionaram positivamente somente às áreas com distúrbio nos parques nos dois períodos avaliados. Os EL-PLFAs 16:1 ω 7c se correlacionou ao PL e ND do PETAR e do PECJ, exceto no período chuvoso do PETAR, no qual esse ácido graxo foi relacionado somente à área ND. O 18:1 ω 9c relacionou-se ao PL do PETAR nos dois períodos e ao PF no período seco e ND no período chuvoso do PECJ. O 10Me18:0 correlacionou-se ao PL do PETAR e PF do PECJ nos dois períodos.

Algumas relações indicadoras de estresse foram também relacionadas às áreas impactadas. São elas: a relação sat/insat esteve correlacionada ao PL do PETAR nos dois períodos, à PF no período seco e à PF e PL no período chuvoso do PECJ; a relação mono/sat se relacionou ao PL e ND do PETAR e do PECJ, exceto no período chuvoso, onde essa relação esteve correlacionada às áreas ND e FN (Figuras 3.1A, 3.1B, 3.2A e 3.2B). O único ácido graxo que se relacionou a FN nos dois parques e nos dois períodos avaliados foi o 16:1 2OH (Figuras 3.1A, 3.1B, 3.2A e 3.2B).

Figura 3.2 - Análise de redundância (triplo) (RDA) dos perfis de ácidos graxos ligados a ésteres de fosfolipídios (EL-PLFAs) no PECJ (Parque Estadual de Campos do Jordão), variáveis ambientais (atributos químicos e físicos do solo), diferentes áreas e dois períodos; A) período seco (símbolos cheios) e B) período chuvoso (símbolos vazios); nas áreas: floresta nativa de araucária (FN), floresta de araucária com distúrbio antropogênico (ND), plantio de araucária (PL) e plantio de araucária submetido ao fogo acidental (PF), variáveis ambientais: pH, fósforo (P), relação COT/NT (C/N) e teor de argila (Argila). Os símbolos maiores são os centróides para cada área

Os dados de MDCC (Média do Desenvolvimento de Cor por Cavidade) no PETAR foram submetidos à análise de redundância (RDA) e ao teste de Monte Carlo que se mostrou estatisticamente significativo ($p < 0,05$) nos dois períodos avaliados (Figuras 3.3A e 3.3B). No período seco, as variáveis ambientais explicaram 60,2 % da variabilidade dos dados de Biolog. O primeiro eixo explicou 42,2 % e segundo eixo 18 % da variabilidade dos dados (Figura 3.3A) e encontrou-se uma alta correlação entre MDCC e as variáveis ambientais de 0,954. No período chuvoso as variáveis ambientais explicaram 71 % da variabilidade dos dados de Biolog. Foi explicado no primeiro eixo 59,3 % e no segundo eixo 13,4 % da variabilidade dos dados (Figura 3.3B), e também constatou-se uma alta correlação entre MDCC e as variáveis ambientais de 0,933. Portanto, a alta correlação MDCC e as variáveis ambientais encontrada nos períodos avaliados demonstra que relevantes variáveis ambientais foram analisadas na RDA.

Os agrupamentos das áreas FN, ND e PL no Biolog (Figuras 3.3A e 3.3B) foram muito semelhantes àqueles encontrados para os EL-PLFAs (Figuras 3.1A e 3.1B), sendo que no período seco as áreas FN e ND estiveram próximas, não se separando por completo, enquanto que no período chuvoso houve separação completa das áreas, confirmando os dados já apresentados na análise de ácidos graxos.

No período seco as áreas FN e ND tenderam a se separar, mas ainda ficaram sobrepostas (Figura 3.3A). As áreas FN e ND foram relacionadas positivamente ao consumo dos ácidos carboxílicos (AC1, AC2, AC3, AC5, AC7 e AC8), dos carboidratos (C4, C5, C6 e C7), dos polímeros (PO1, PO2 e PO4), dos aminoácidos (AA1, AA2, AA3 e AA4), da amina/amida (AM1), da miscelânea (M1) e as variáveis ambientais P e pH. No período chuvoso houve a separação entre as áreas FN e ND, formando grupos distintos, e constatou-se que alguns substratos correlacionados a essas áreas, no período seco, passaram a se correlacionar somente a uma das áreas no período chuvoso (Figura 3.3B).

Dessa maneira, no período chuvoso a área FN se correlacionou positivamente ao pH e ao consumo dos ácidos carboxílicos (AC1, AC2, AC3 e AC5), dos carboidratos (C4, C6 e C7), dos polímeros (PO1 e PO2), dos aminoácidos (AA1, AA2, AA3 e AA4) e da miscelânea (M1), e a área ND foi positivamente relacionada ao P e ao consumo dos ácidos carboxílicos (AC7 e AC8), do carboidrato (C5) e do polímero (PO4) (Figura 3.3B).

Nos dois períodos avaliados o pH foi positivamente correlacionado ao consumo dos substratos PO2 ($r_s = 0,504$, $p < 0,01$) e AA1 ($r_s = 0,486$, $p < 0,001$), e o consumo dos substratos PO4 ($r_s = 0,471$, $p < 0,01$) e o AC8 ($r_s = 0,565$, $p < 0,01$) foram relacionados ao P. O consumo do PO2 e PO4 foram positivamente relacionados ao teor de areia ($r_s = 0,5152$, $p < 0,01$; $r_s = 0,3948$, $p < 0,05$, respectivamente) e negativamente relacionados ao teor de argila ($r_s = -0,4831$, $p < 0,01$; $r_s = -0,4077$, $p < 0,05$), respectivamente. O consumo do M1 foi o único a relacionar-se positivo e significativamente ao teor de silte ($r_s = 0,3613$, $p < 0,05$).

Levando-se em consideração os períodos seco e chuvoso observamos que a área PL relacionou-se positivamente ao consumo dos ácidos carboxílicos (AC4, AC6 e AC9), dos carboidratos (C2 e C3), das miscelâneas (M2 e M3) e as variáveis ambientais teor de argila, COT e S (Figuras 3.3A e 3.3B). Pela correlação de Spearman o consumo dos substratos AC4 ($r_s = 0,434$, $p < 0,05$) e AC6 ($r_s = 0,434$, $p < 0,05$) foram correlacionados ao COT. O consumo dos substratos M3 ($r_s = 0,432$, $p < 0,05$) e AC4 ($r_s = 0,411$, $p < 0,05$) foram relacionados ao S, sendo o M3 ($r_s = 0,547$, $p < 0,01$) correlacionado ao teor de argila.

Figura 3.3 - Análise de redundância (triplo) (RDA) da capacidade de utilização de substratos de carbono (Biolog) no PETAR (Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira), variáveis ambientais (atributos químicos e físicos do solo), diferentes áreas e dois períodos; A) período seco (símbolos cheios) e B) período chuvoso (símbolos vazios); nas áreas: floresta nativa de araucária (FN), floresta de araucária com distúrbio antropogênico (ND) e plantio de araucária (PL), variáveis ambientais: pH, fósforo (P), carbono orgânico total (COT), enxofre (S) e teor de argila (Argila). Os símbolos maiores são os centróides de cada área. Os grupos de substratos são: Miscelânea (Δ) - ácido pirúvico metil éster (M1), glicose-1-fosfato (M2), D, L- α -glicerol fosfato (M3); Polímero (∇) - tween 40 (PO1), tween 80 (PO2), α -ciclodextrina (PO3), glicogênio (PO4); Carboidratos ($\times$) - D-celobiose (C1), α -D-lactose (C2), β -metil-D-glicosídeo (C3), D-xilose (C4), l-eritritol (C5), D-manitol (C6), N-acetil-D-glicosamina (C7); Ácido carboxílico ($\blacklozenge$) - ácido D-glicosamínico (AC1), ácido D-galacturônico γ -lactona (AC2), ácido D-galacturônico (AC3), ácido 2-hidroxibenzóico (AC4), ácido 4-hidroxibenzóico (AC5), ácido γ -hidroxibutírico (AC6), ácido itacônico (AC7), ácido α -cetobutírico (AC8), ácido D-málico (AC9); Aminoácido (∇) - L-arginina (AA1), L-asparagina (AA2), L-fenilalanina (AA3), L-serina (AA4), L-treonina (AA5), ácido glicil-L-glutâmico (AA6) e Amina/Amida ($\blacklozenge$) - feniletilamina (AM1) e putrescina (AM2)

Os dados de MDCC no PECJ também submetidos à análise de redundância (RDA) e ao teste de Monte Carlo se mostrou estatisticamente significativo ($p < 0,05$) para os períodos de seca e chuva (Figuras 3.4A e 3.4B). No período seco, as variáveis ambientais explicaram 52,1 % da variabilidade dos dados do Biolog. O primeiro eixo explicou 35,5 % e o segundo eixo 29 % da variabilidade (Figura 3.4A), e encontrou-se uma alta correlação entre MDCC e as variáveis ambientais de 0,867. No período chuvoso, as variáveis ambientais explicaram 59,4 % da variabilidade dos dados de MDCC, sendo explicado no primeiro eixo 54,6 % e no segundo eixo 13,1 % da variabilidade (Figura 3.4B). Revelou-se, também, uma alta correlação entre MDCC e as variáveis ambientais de 0,884.

Observou-se no período seco que as áreas ND e PF se agruparam distintamente, enquanto que FN e PL tenderam a formar grupos distintos, porém observou-se a sobreposição entre FN e PL (Figura 3.4A). No período chuvoso, constatou-se que FN, ND e PF se agruparam distintamente, no entanto, o PL se agrupou sobreposto às demais áreas (Figura 3.4B). Assim, apesar da sobreposição de PL, nota-se a tendência dessa área em se separar das demais, para formar um agrupamento muito semelhante àquele encontrado no perfil de ácidos graxos no período chuvoso do PECJ, onde o PL se agrupou entre ND e PF, entretanto, no perfil de ácidos graxos as áreas se separaram por completo (Figura 3.2B). Portanto, como foi observado para PETAR e PECJ, ambos, o EL-PLFA e o Biolog formaram agrupamentos muito semelhantes. Embora tratando-se de técnicas diferentes, essas mostraram as mesmas tendências para a separação das áreas dentro dos períodos analisados.

Pode-se observar pela RDA que nos períodos seco e chuvoso a área FN correlacionou-se positivamente ao teor de argila e ao consumo da miscelânea (M3) (Figuras 3.4A e 3.4B). O teor de argila se relacionou ao consumo do polímero (PO1) ($r_s = 0,358$, $p < 0,05$) e o consumo do substrato M3 ($r_s = 0,436$, $p < 0,01$) se correlacionou à SB. A área ND foi relacionada positivamente ao consumo do ácido carboxílico (AC5) e do polímero (PO3) e ao P. O consumo do substrato AC5 ($r_s = -0,465$, $p < 0,01$) foi negativamente relacionado ao pH. O PL correlacionou-se positivamente ao consumo do carboidrato (C2). No período chuvoso a área PL se relacionou positivamente às variáveis ambientais S e P (Figura 3.4B) e no período seco ao COT (Figura 3.4A). O PF foi positivamente correlacionado ao consumo dos aminoácidos (AA1 e AA4), dos carboidratos

(C3 e C5), do ácido carboxílico (AC4) e ao pH. O consumo dos substratos AA1 ($r_s = 0,384$, $p < 0,05$) e AC4 ($r_s = 0,354$, $p < 0,05$) foram relacionados positivamente ao pH. O consumo do ácido carboxílico (AC6) foi altamente e positivamente relacionado ao COT ($r_s = 0,540$, $p < 0,001$) e ao NT ($r_s = 0,642$, $p < 0,0001$) e o carboidrato (C4) somente foi correlacionado ao NT ($r_s = 0,603$, $p < 0,001$).

O consumo de alguns substratos se relacionou positivamente somente com as áreas impactadas dos dois parques nos períodos avaliados. O consumo dos substratos glicose-1-fosfato (M2) correlacionou-se positivamente ao PL do PETAR nos dois períodos, à ND no período seco e à PF no período chuvoso do PECJ (Figuras 3.3A, 3.3B, 3.4A e 3.4B). O consumo de α -D-lactose (C2) se relacionou positivamente ao PL do PETAR e PECJ nos dois períodos e o consumo do ácido γ -hidroxibutírico (AC6) se relacionou positivamente ao PL do PETAR nos dois períodos, à ND no período seco e ao PF no período chuvoso do PECJ. E o consumo dos substratos β -metil-D-glicosídeo (C3) e do ácido 2-hidroxibenzóico (AC4) se correlacionou ao PL do PETAR e ao PF do PECJ nos períodos seco e chuvoso. Outros substratos consumidos também se relacionaram às áreas impactadas, e foram: o l-eritritol (C5), ácido itacônico (AC7), ácido α -cetobutírico (AC8) e feniletilamina (AM1). No entanto, apesar do consumo desses substratos estarem relacionados às áreas impactadas nos dois períodos do PETAR e PECJ, esses substratos também se relacionaram à FN no período seco do PETAR.

Figura 3.4 - Análise de redundância (triplo) (RDA) da capacidade de utilização de substratos de carbono (Biolog) no PECJ (Parque Estadual de Campos do Jordão), variáveis ambientais (atributos químicos e físicos do solo), diferentes áreas e dois períodos; A) período seco (símbolos cheios) e B) período chuvoso (símbolos vazios); nas áreas: floresta nativa de araucária (FN), nativa com distúrbio (ND) e plantio de araucária (PL), variáveis ambientais: pH, fósforo (P), carbono orgânico total (COT), enxofre (S), nitrogênio total (NT), soma de bases (SB) e teor de argila (Argila). Os símbolos maiores são os centróides de cada área. Os grupos de substratos são: Miscelânea ($\triangle$) - ácido pirúvico metil éster (M1), glicose-1-fosfato (M2), D, L- α -glicerol fosfato (M3); Polímero ($\star$) - tween 40 (PO1), tween 80 (PO2), α -ciclodextrina (PO3), glicogênio (PO4); Carboidratos ($\times$) - D-celobiose (C1), α -D-lactose (C2), β -metil-D-glicosídeo (C3), D-xilose (C4), l-eritritol (C5), D-manitol (C6), N-acetil-D-glicosamina (C7); Ácido carboxílico ($\blacklozenge$) - ácido D-glicosamínico (AC1), ácido D-galacturônico γ -lactona (AC2), ácido D-galacturônico (AC3), ácido 2-hidroxibenzoico (AC4), ácido 4-hidroxibenzoico (AC5), ácido γ -hidroxibutírico (AC6), ácido itacônico (AC7), ácido α -cetobutírico (AC8), ácido D-málico (AC9); Aminoácido (∇) - L-arginina (AA1), L-asparagina (AA2), L-fenilalanina (AA3), L-serina (AA4), L-treonina (AA5), ácido glicil-L-glutâmico (AA6) e Amina/Amida ($\blacklozenge$) - feniletilamina (AM1) e putrescina (AM2)

3.2.3 Discussão

O ciclopropano cy19:0 e a relação fung/bac foram correlacionados às áreas impactadas nos dois parques, porém, a área FN do PECJ foi relacionada ao cy19:0 , durante o período seco, e à relação fung/bac no chuvoso. O ácido graxo cy19:0 e a relação fung/bac foram negativamente relacionados ao pH somente no PETAR durante os dois períodos avaliados. Resultados semelhantes com EL-PLFA foram encontrados para a relação fungo/bactéria e também para o ácido graxo cy19:0 em floresta de carvalho e em solos cultivados, onde esses aumentaram com a diminuição do pH (BÅÅTH; ANDERSON, 2003, NILSSON et al., 2007, ROUSK et al., 2009). A resposta microbiana aos distúrbios ambientais pode vir por meio da alteração no perfil dos EL-PLFAs, devido à mudança da estrutura da comunidade microbiana ou pode se dar simplesmente pela modificação dos ácidos graxos da membrana microbiana (GUKERT et al., 1986; HEIPIEPER, et al., 1996). Os micro-organismos podem modificar ácidos graxos monoinsaturados *cis* para ciclopropanos em condições adversas, mantendo a função da membrana uma vez que diminui a perda de lipídios e, além disso, não permite que a fluidez da membrana seja alterada (GUKERT et al., 1986). Trabalhos vêm mostrando repetidamente a relação negativa entre cy19:0 e o pH. Por isso, Rousk et al. (2010) sugeriram que o ciclopronano cy19:0 seja utilizado como um indicador dos efeitos diretos da mudança do pH em relação à composição do PLFA microbiano.

Blagodatskaya e Anderson (1998) estimaram a quantidade de bactérias e fungos por meio de técnica de inibição seletiva, num gradiente de pH em solos florestais, e verificaram que a relação fungo/bactéria aumenta com a diminuição do pH. Dessa forma, um pH mais baixo pode favorecer a comunidade fúngica em vez da comunidade bacteriana (GRAYSTON; PRESCOTT, 2005; BLAGODATSKAYA; ANDERSON, 1998). O aumento da biomassa fúngica em relação à bacteriana pode ser atribuído a menores concentrações de Ca, Mg e K, e consequentemente, da saturação da CTC por bases, o que favoreceria o abaixamento do pH (GRAYSTON; PRESCOTT, 2005). No entanto, no presente estudo, as correlações entre relação fungo/bactéria e as concentrações de Ca, Mg, K e saturação por bases não foram significantes, havendo somente relação significativa e negativa entre relação fungo/bactéria e o pH no PETAR. O ácido graxo cy19:0 e a relação fung/bac

apresentaram a mesma tendência nos dois parques de se relacionarem às áreas impactadas, no entanto, se mostraram também, em um dos períodos, relacionados à FN no PECJ. Por esse motivo não podemos sugerir a sua utilização como potencial indicador de qualidade do solo para florestas de araucária, sem que antes sejam feitas novas avaliações.

A relação G-/G+, assim como o ácido graxo cy19:0 se relacionaram positivamente ao PL no PETAR durante os dois períodos e à ND no período chuvoso e FN no período seco do PECJ, além de correlacionar-se negativamente ao pH no PETAR e no PECJ. Algumas condições de estresse ocasionadas pela presença de metais pesados, pesticidas e pelo manejo do solo são capazes de aumentar a relação G-/G+ em decorrência da diminuição de bactérias Gram-positivas e aumento de Gram-negativas (FROSTEGÅRD et al., 1993; ZHANG et al., 2009; ZELLES; BAI, 1994). Muitas bactérias Gram-negativas são consideradas estrategistas “r”, que investem muita energia na reprodução e estão em ambientes ricos em nutrientes, enquanto que bactérias Gram-positivas são conhecidas como estrategistas “k”, as quais aplicam a energia na sua manutenção e permanecem em nichos oligotróficos (ANDREWS; HARRIS 1986; KRIŠTŮFEK, et al., 2005; ESQUILÍN et al., 2008). Esses dados são corroborados por Soderberg et al. (2004), os quais, em estudo com isótopo ^{13}C , revelaram que as bactérias Gram-negativas incorporam carbono de substâncias de fácil degradação, originadas dos exsudatos de raízes, e que as bactérias Gram-positivas são capazes de utilizar compostos de carbono mais complexos, provenientes da matéria orgânica mais velha e recalcitrante de plantas C3.

Observou-se que o PL do PETAR apresentou-se negativamente relacionado ao pH e, além disso, foi positivamente relacionado ao COT; talvez essa condição possa ter favorecido a proliferação de bactérias Gram-negativas em vez de bactérias Gram-positivas, o que elevou a relação G-/G+ nessa área. No entanto, no PECJ, somente foi observada a correlação negativa entre a relação G-/G+ e o pH. Portanto, pode ser que a relação G-/G+ seja mais influenciada pelo pH do que pela condição nutricional do solo em floresta de araucária ou pelo tipo de manejo, uma vez que as bactérias Gram-negativas são mais adaptadas a ambientes ácidos.

Nas áreas avaliadas constataram-se correlações positivas entre a relação sat/insat e o ácido 10Me18:0 (actinobactérias) às áreas de PL no PETAR e PF no PECJ, durante

os dois períodos. A análise do gene rRNA 16S no PECJ mostrou que o filo *Actinobacteria* foi o terceiro mais abundante nas áreas FN, PL e PF (MALUCHE-BARETTA, 2007), no entanto, a área FN do estudo anterior, foi considerada como ND no nosso trabalho, devido aos distúrbios observados, e uma outra área FN, mais conservada, foi escolhida.

A relação sat/insat e o ácido graxo 10Me18:0 também tem sido associados à resposta da comunidade microbiana ao estresse ambiental. O aumento da relação sat/insat foi relatado por Kieft et al. (1994); Pitonzo et al. (1999) como resultado de estresse hídrico ou, em outros casos, à baixa disponibilidade de nutrientes, pH, temperatura e distúrbios químicos ou físicos ocorridos no solo (WHITE et al., 1996; CULLEN et al., 1971; KIEFT et al., 1997; PEACOCK et al., 2001; FIERER et al., 2003).

Scherber et al. (2009), estudando células de *E. coli* submetidas ao estresse hídrico, observaram que essas células, quando comparadas àquelas não submetidas ao estresse, apresentaram maior porcentagem de ácidos graxos saturados em relação aos insaturados. Quando as células com estresse hídrico foram reidratadas, os ácidos graxos insaturados foram aumentados e os saturados foram diminuídos. De acordo com os autores a maior porcentagem de ácidos graxos saturados encontrados em células submetidas ao estresse pode ser resultado de uma remoção seletiva de regiões da membrana altamente concentrada com ácidos graxos insaturados, por meio da liberação de vesículas. Isso permitiu a manutenção da fluidez da membrana celular e a sobrevivência das células sob as condições de estresse hídrico, o que pode ter impedido o aumento na permeabilidade da membrana e o extravazamento celular (CROWE et al., 1989; HAYS et al., 2001). Uma vez que o aumento da quantidade de ácidos graxos insaturados tem sido correlacionado com a maior fluidez da membrana (ARICHA et al., 2004; MEJIÁ et al., 1999).

Sabe-se que as actinobactérias são micro-organismos que possuem, dentre outras, a importante função de decompositores produzindo enzimas capazes de degradar macromoléculas complexas como, caseína, celulose, húmus, quitina e lignocelulose (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). No entanto, a rizosfera também se mostra como um ambiente propício à multiplicação das actinobactérias, assim como de fungos e bactérias, apesar de as actinobactérias terem crescimento lento e, por isso, uma baixa capacidade

competitiva (NUNES, et al., 2009; JESUS et al., 2010). Desse modo, as actinobactérias são capazes de se adaptar às condições adversas e podem ocupar e se instalar em nichos que antes eram ocupados por micro-organismos menos resistentes às condições de estresse (SILVEIRA et al., 2006). A tolerância às condições de estresse pode ser devida à formação de esporos e conídios que são importantes estruturas de resistência (PEREIRA, 2000).

Silveira et al. (2006), ao comparar a diversidade microbiana entre uma área de monocultivo de eucalipto e outra de floresta nativa, encontrou a predominância do filo *Actinobacteria* no solo sob cultivo de eucalipto. Segundo os autores, a presença de nutrientes orgânicos provenientes dos exsudatos das raízes no cultivo de eucalipto pode ter causado uma instabilidade no meio, e isso pode ter favorecido o aumento das actinobactérias sobre os outros grupos bacterianos, uma vez que as estruturas de resistência dão a esses micro-organismos vantagens em ambientes impactados (SILVEIRA et al., 2006). Resultados semelhantes foram encontrados por Pereira et al. (1999), quando verificaram o aumento de actinobactérias no cultivo de soja em comparação à vegetação nativa de cerrado. As actinobactérias podem ser tolerantes à dessecação como também a altas concentrações de metais pesados como Zn e Pb (ZENOVA et al., 2007; JENKINS et al., 2009).

As áreas de plantio de araucária as quais se correlacionaram com a relação sat/insat e 10Me18:0, mostram o solo coberto por gramíneas e estão constantemente recebendo a entrada de animais como gado. Quando a floresta de araucária nativa não sofre qualquer tipo de distúrbio tem a serapilheira composta, na sua maior parte, por acículas de difícil decomposição, enquanto que as espécies vegetais do sub-bosque contribuem com metade da liteira e essa parte é mais facilmente decomposta (FERNANDES; BACKES, 1998). No entanto, o pastoreio nessas áreas pode favorecer a retirada de parte das espécies vegetais e sementes do sub-bosque, interferindo direta e indiretamente na densidade do sub-bosque e, como consequência, reduzindo a quantidade e alterando a qualidade da serapilheira (THOMAZ, 2007; PERUCCELLI; ANTONELLI, 2010). Além disso, o pisoteio provocado pelo gado e por cavalos pode favorecer a compactação do solo e resultar na redução da retenção de água (THOMAZ, 2007; PERUCCELLI; ANTONELLI, 2010). Assim, o gado pode modificar a atividade

metabólica de certas associações microbianas do solo como consequência da retirada da biomassa, compactação do solo e presença de excrementos (KOHLENER et al., 2005).

Outro fator importante é a modificação que a comunidade microbiana pode sofrer em decorrência da liberação de exsudatos das raízes vegetais no solo. Visto que os exsudatos das raízes de plantas são compostos por carboidratos, aminoácidos, ácidos orgânicos, além de diversos outros compostos, e a combinação desses compostos pode ajudar a moldar a comunidade microbiana do solo (BARDGETT; SHINE, 1999). Sabe-se que a exsudação varia em quantidade e qualidade entre as diferentes espécies de plantas e, dessa forma, a diversidade microbiana da rizosfera, bem como sua habilidade funcional, estão sujeitas a essa variação (SODERBERG et al., 2004, GRAYSTON et al., 1998; VELASCO et al., 2009). No entanto, a liberação de exsudatos, apesar de importante, pode não ter um papel decisivo na modificação das populações do solo (BARDGETT; SHINE, 1999).

Por esse motivo, nossa hipótese é que a correlação existente entre a relação sat/insat, o ácido graxo 10Me18:0 e as áreas PL no PETAR e PF no PECJ seja em decorrência da presença de gramíneas e do pastoreio pelo gado e por cavalos. Os exsudatos provenientes das raízes das gramíneas e o pastoreio podem ter ajudado a selecionar uma comunidade microbiana adaptada à modificação ocorrida nesses ambientes (SILVEIRA et al., 2006; THOMAZ, 2007). Portanto, a relação sat/insat e o ácido graxo 10Me18:0 foram capazes de apontar alterações ocorridas entre os tratamentos, sendo relacionados ao ambiente impactado. Assim, sugere-se que esses atributos são indicadores de qualidade do solo em ecossistemas de araucária.

Os ácidos graxos 16:1 ω 7c e 18:1 ω 9c se mostraram relacionados às áreas impactadas no PETAR e PECJ durante os períodos seco e chuvoso. Sabe-se que esses ácidos graxos são biomarcadores para bactérias Gram-negativas e fungos saprofíticos, respectivamente. Os ácidos graxos 16:1 ω 7c e 18:1 ω 9c podem ser afetados pela quantidade de nutrientes (GUICKERT et al., 1986) e metais pesados (FROSTEGÅRD et al., 1993). Sugere-se que a presença desses ácidos graxos, em solos com interferência antropogênica, seja um indício dos distúrbios ocorridos nesse sistema florestal.

Dentre os substratos consumidos por meio do Biolog, constatou-se que alguns substratos, mesmo com a interferência da sazonalidade, foram consumidos principalmente nos ambientes com algum tipo de distúrbio nos dois parques avaliados; são eles: a miscelânea (glicose-1-fosfato - M2), os carboidratos (α -D-lactose - C2 e β -metil-D-glicosídeo - C3) e os ácidos carboxílicos (ácido 2-hidroxibenzóico - AC4 e ácido γ -hidroxibutírico - AC6) (Figuras 3.3A, 3.3B, 3.4A e 3.4B). Em um estudo anterior no PECJ, Maluche-Baretta (2007) encontrou um maior consumo de carboidratos nas áreas PF e FN, considerada ND no nosso estudo, e um menor consumo ocorreu no PL, além disso, não foram encontradas diferenças significativas entre as áreas para o consumo de ácidos carboxílicos e miscelâneas.

Os substratos β -metil-D-glicosídeo (C3) e ácido 2-hidroxibenzóico (AC4) tiveram seu consumo relacionado às áreas de PL no PETAR e PF no PECJ. Ainda, o consumo do substrato α -D-lactose (C2) se mostrou relacionado somente às áreas de PL nos parques e períodos avaliados. Essas áreas de plantio são muito parecidas e ambas possuem semelhante tipo de distúrbio, o pastoreio e a presença de gramíneas no solo. Dessa forma, sugere-se que a disponibilidade de substratos de fácil decomposição provenientes dos exsudatos das raízes das gramíneas, a alteração que possa ter ocorrido na qualidade e quantidade da serapilheira e o pisoteio dos animais possam ter atuado em selecionar populações semelhantes nessas duas áreas. Essa hipótese pode estar alinhada com a correlação positiva existente entre a relação sat/insat e o ácido graxo 10Me18:0 com o consumo dos substratos C3 ($r_s = 0,512$, $p < 0,0001$; $r_s = 0,442$, $p < 0,001$, respectivamente) e AC4 ($r_s = 0,286$, $p < 0,05$; $r_s = 0,331$, $p < 0,01$, respectivamente). Assim, tanto o consumo dos substratos como os EL-PLFAs foram relacionados ao PL do PETAR e o PF do PECJ. GAUBLomme et al., 2006 sugeriram como potencial indicador de alterações ocorridas no solo o consumo dos substratos β -metil-D-glicosídeo (C3) e ácido 2-hidroxibenzóico (AC4), os quais foram muito bem consumidos em solos agrícolas, sendo pouco consumidos em solos de aterro sanitário e quase nada em florestas de coníferas e decíduas.

Bossio e Scow (1995) sugeriram que a utilização de carboidratos pela comunidade microbiana responde muito significativamente às modificações no solo pela incorporação de resíduos orgânicos e excesso de umidade, assim como à adição de

metais pesados (LEHMAN et al., 1997), ou a diferentes tipos de manejo (MONOKROUSOS et al., 2006). Em trabalhos envolvendo milho transgênico, verificou-se que a proteína Cry1Ab, proveniente da decomposição dos resíduos dessa cultura, pareceu induzir o aumento do consumo de carboidratos pela comunidade microbiana do solo (MULDER et al., 2006).

A miscelânea glicose-1-fosfato (M2), assim como o ácido carboxílico ácido γ -hidroxibutírico (AC6), relacionaram-se às áreas impactadas no PETAR (PL) nos dois períodos e PECJ (ND no período seco e PF no chuvoso). Resultados semelhantes foram encontrados por Gaublomme et al. (2006) os quais relataram que a glicose-1-fosfato (M2) foi a fonte de carbono mais utilizada em solos com pastagem ou cultivados quando comparados a solos com floresta, sendo também consumidos os substratos β -metil-D-glicosídeo (C3) e ácido γ -hidroxibutírico (AC6) e mais 5 outros substratos. O alto consumo de glicose-1-fosfato (M2) também foi identificado em pilhas de compostagem com solo contaminado por altas concentrações de clorofenol (LAINE et al., 1997).

A textura do solo também pode influenciar a predominância de algumas populações em relação a outras. Assim, o ácido γ -hidroxibutírico (AC6) foi um dos substratos mais consumidos pelas populações microbianas dos solos argilosos, diferindo daquelas presentes em solos arenosos (GAUBLOMME et al., 2006). Quando foram comparados solos arenosos e franco-arenosos, o maior consumo dos ácidos carboxílicos foi pelas populações presentes no solo franco arenoso e, além disso, o consumo desse grupo de substrato foi influenciado mais pela textura do solo do que pelo tipo de vegetação (CHODAK; NIKLIŃSKA, 2010).

No presente estudo o consumo do ácido γ -hidroxibutírico (AC6) foi correlacionado ao PL do PETAR e essa foi a área que apresentou maior teor de argila, enquanto que no PECJ o consumo desse substrato foi relacionado às áreas ND e PF, que apresentaram os maiores teores de areia (Figuras 3.3A, 3.3B, 3.4A e 3.4B, Apêndices E e F). Portanto, pode ser que a textura do solo não seja definitiva para a seleção de determinadas populações microbianas capazes de consumir o ácido γ -hidroxibutírico (AC6), mas que também possa existir a influência de outras propriedades físico-químicas do solo, tipo de vegetação ou disponibilidade de nutrientes (SALOMÉ et al., 2010), ao contrário do que foi constatado por Chodak e Niklińska (2010).

Os métodos EL-PLFA e Biolog discriminaram as áreas dos parques dentro dos períodos avaliados. No entanto, quando se comparam os dois métodos, o método EL-PLFA ofereceu melhores explicações da variabilidade dos dados pelas variáveis ambientais, e também a melhor discriminação entre as áreas avaliadas, quando comparado ao Biolog. Isto parece indicar que a avaliação de EL-PLFA seja mais sensível às mudanças ocorridas na comunidade microbiana em ecossistemas de araucária do que o Biolog. Alguns estudos mostram que o EL-PLFA é mais sensível para a diferenciação entre os tratamentos do que o Biolog (BÅÅTH et al., 1998; PRIHA et al., 1999; MCNEAL et al., 2009). Muito provavelmente essa diferença ocorre devido ao fato do Biolog ser dependente do crescimento microbiano, favorecendo micro-organismos de crescimento rápido e adaptados a altas concentrações de substrato, enquanto que o EL-PLFA considera a comunidade microbiana por inteiro, não dependendo do crescimento microbiano, e são encontrados somente em células vivas (GARLAND, 1997; ZELLES, 1999; McNEAL et al., 2009). O Biolog é simples e rápido, assim como o EL-PLFA, entretanto, pode ser utilizado para caracterizar e comparar comunidades microbianas baseadas em sua capacidade catabólica, embora a interpretação dos dados deva ser feita com cuidado (GARLAND, 1997; NANNIPIERI et al., 2003).

3.3 Conclusão

Tanto no PETAR como no PECJ foram identificados padrões similares de EL-PLFA, todos os ácidos graxos encontrados no PETAR também o foram no PECJ, e a maioria dos ácidos graxos identificados coincidiu com aqueles encontrados em estudo anterior no PECJ. Isso pode ser considerado indicativo de que existe um padrão de EL-PLFA próprio do ecossistema de araucária.

Os métodos EL-PLFA e o Biolog, pela análise de RDA, mostraram a mesma tendência na discriminação entre as áreas, no entanto, o EL-PLFA foi o método que revelou com maior clareza a distinção entre as áreas nos períodos e locais avaliados.

Os ácidos graxos 10Me18:0, 18:1w9c, 16:1w7c, a relação sat/insat e o consumo dos substratos glicose-1-fosfato, β -metil-D-glicosídeo, ácido 2-hidroxibenzóico, α -D-lactose e

ácido γ -hidroxibutírico se mostraram sempre relacionados às áreas impactadas dos dois parques avaliados durante os períodos de seca e chuva. Portanto, essas variáveis microbiológicas podem ser consideradas como potenciais indicadores de qualidade do solo em floresta de araucária, pois se mostram sensíveis à interferência antrópica e se mantêm estáveis durante os períodos de chuva e seca, além de serem de fácil e rápida detecção.

Referências

- ANDREWS, J.H.; HARRIS, R.F. r- and K-selection and microbial ecology. In: MARSHALL, K.C. (Ed.). **Advances in microbial ecology**. New York: Plenum Press, 1986. v.9. p. 99–147.
- ARIAS, M.E.; GONZALEZ-PEREZ, J.A.; GONZALEZ-VILA, F.J.; BALL, A.S. Soil health - a new challenge for microbiologists and chemists. **International Microbiology**, Barcelona, v. 8, n. 1, p. 13-21, 2005.
- ARICHA, B.; FISHOV, I.; COHEN, Z.; SIKRON, N.; PESAKHOV, S.; KHOZIN-GOLDBERG, I.; DAGAN, R.; PORAT, N. Differences in membrane fluidity and fatty acid composition between phenotypic variants of *Streptococcus pneumoniae*. **The Journal of Bacteriology**, Washington, v. 186, p. 4638–4644, 2004.
- AVIDANO, L.; GAMALERO, E.; COSSA, G.P.; CARRARO, E. Characterization of soil health in an Italian polluted site by using microorganisms as bioindicators. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 30, p. 21-33, 2005.
- BÅÅTH, E.; DIAZ-RAVINA, M.; FROSTEGÅRD, A.; CAMPBELL, C.D. Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 1, p. 238-245, 1998.
- BÅÅTH, E.; ANDERSON T.H. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA- based techniques. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 955–963, 2003.
- BAI, Z.G.; DENT, D.L.; OLSSON, L.; SCHAEPMAN, M.E. **Global assessment of land degradation and improvement**. 1. Identification by remote sensing. Wageningen: ISRIC – World Soil Information, 2008. p. 78 (Report 2008/01).
- Banco Regional de Desenvolvimento do Extremo Sul - BRDE. Agência de Florianópolis. Gerência de Planejamento. **Cultivo da Araucaria angustifolia**: análise de viabilidade econômico-financeira. Florianópolis: BRDE, 2005. 53 p.

BARDGETT, R.D.; SHINE, A. Linkages between plant litter diversity, soil microbial biomass and ecosystem function in temperate grasslands. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, p. 317–321, 1999.

BASTIDA, F.; ZSOLNAY, A.; HERNÁNDEZ, T.; GARCIA, C. Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. **Geoderma**, Amsterdam, v. 147, p. 159–171, 2008.

BENDING, G.D.; PUTLAND, C.; RAYNS, F. Changes in microbial community metabolism and labile organic matter fractions as early indicators of the impact of management on soil biological quality. **Biology and Fertility of Soils**. New York, v. 31, n. 1, p. 78–84, 2000.

BLAGODATSKAYA, E.V.; ANDERSON, T.H. Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal-to-bacterial ratio and QCO₂ of microbial communities in forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 30, p. 1269–1274, 1998.

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

BOSSIO, D.A.; SCOW, K.M. Impact of carbon and flooding on the metabolic diversity of microbial communities in soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, p. 4043–4050, 1995.

BURGER, J.A. Limitations of bioassays for monitoring forest soil productivity: Rationale and example. **Soil Science Society of America**, Madison, v. 60, p. 1674–1678, 1996.

BURGESS, S.; CAMPBELL, C.D.; SMITH, C.; KILLHAM, K. Can management alter impacts on microbial communities in agricultural soils which have been treated long-term with waste-water sludge? In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MICROBIAL ECOLOGY, 9., 2001. Amsterdam. **Proceedings**, Amsterdam. 26–31. Aug. 2001.

CHAER, G.M.; TOTOLA, M.R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1381–1396, 2007.

CHEN, T.B.; ZHENG, Y.M.; LEI, M.; HUANG, Z.H.; WU, H.T.; CHEN, H.; FAN, K.K.; YU, K.; WU, X.; TIAN, Q.Z. Assessment of heavy metal pollution in surface soils of urban parks in Beijing, China. **Chemosphere**, Oxford, v. 60, p. 542–551, 2006.

CHODAK, M.; NIKLIŃSKA, M. Effect of texture and tree species on microbial properties of mine soils. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 46, p. 268–327, 2010.

CROWE, J.H.; CROWE, L.M.; HOEKSTRA, F.A. Phase transitions and permeability changes in dry membranes during rehydration. **Journal of Bioenergy and Biomembrane**, New York, v. 21, p. 77–91, 1989.

CULLEN, J.; PHILLIPS, M.C.; SHIPLEY, G.G. The effects of temperature on the composition and physical properties of the lipids of *Pseudomonas fluorescens*. **Biochemical Journal**, London, v. 125, p. 733–742, 1971.

DORAN, J.L.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STAWART, B.A. Defining soil quality for a sustainable environment. **Soil Science Society of America**, Madison, 1994. p. 3-21.

ESQUILÍN, A.E.J.; STROMBERGER, M.E.; SHEPPERD, W.D. Soil scarification and wildfire interactions and effects on microbial communities and carbon. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 72, n. 1, p. 111-118, 2008.

FERNANDES, A.V.; BACKES, A. Produtividade primaria em floresta com *Araucaria angustifolia* no Rio Grande do Sul. **Iheringia**, Série Botânica, v. 1, p.63-78, 1998.

FERREIRA, D.F. **Sisvar**: versão 5.0. Lavras: UFLA, 2007.

FIERER, N.; SCHIMEL, J.P.; HOLDEN, P.A. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles, **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 167–176, 2003.

FROSTEGARD, A.; TUNLID, A.; BAATH, E. Phospholipid fatty acid composition, biomass and activity of microbial communities from 2 soil types experimentally exposed to different heavy metals. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, n. 11, p. 3605-3617, 1993.

FROSTEGÅRD; A.; BÅÅTH, E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. **Biology and fertility of soils**. New York, v. 22, p. 59–65, 1996.

GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T.; COSTA, F. Microbial activity in soils under Mediterranean environmental conditions. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 26, p. 1185–1191, 1994.

GARLAND, J.L. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. **FEMS Microbiology Ecology**, Malden, v. 24, p. 289-300, 1997.

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

GAUBLOMME, E.; DE VOS B.; COOLS, N. An indicator for Microbial Biodiversity in Forest Soils. INBO.R.2006.40 **Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek**, Brussel, 2006. 129p.

GRAYSTON, S.J.; PRESCOTT, C.E. Microbial communities in forest floors under four tree species in coastal British Columbia, **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, p. 1157-1167, 2005.

GRAYSTON, S.J.; WANG, S.; CAMPBELL, C.D.; EDWARDS, A.C. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.30, p. 369-378, 1998.

GUCKERT, J.B.; HOOD, M.A.; WHITE, D.C. Phospholipid ester-linked fatty acid profile changes during nutrient deprivation of vibrio-cholerae – increases in the trans cis ratio and proportions of cyclopropyl fatty acids. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 52, n. 4, p. 794-801, 1986.

HALVORSON, J.J.; SMITH, J.L.; PAPENDICK, R.I. Integration of multiple soil parameters to evaluate soil quality: a field experiment example. **Biology and fertility of soils**. New York, v. 21, p. 207–214, 1996.

HAYS, L.M.; CROWE, J.H.; WOLKERS, W.; RUDENKO, S. Factors affecting leakage of trapped solutes from phospholipid vesicles during thermotropic phase transitions, **Cryobiology**, San Diego, v. 42, p. 88–102, 2001.

HAMMAN, S.T.; BURKE, I.C.; STROMBERGER, M.E. Relationships between microbial community structure and soil environmental conditions in a recently burned system. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 39, n. 7, p. 1703-1711, 2007.

HEIPIEPER, H.J. Meulenbeld, G.; Oirschot, Q.V.; de Bont, J.A.M., Effect of environment factors on trans/cis ratio of unsaturated fatty acids in *Pseudomonas putida* S12. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, p. 2773–2777, 1996.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS IBAMA. 1992. Listagem oficial das espécies vegetais brasileiras ameaçadas de extinção. Brasília, DF: MMA. Disponível em: < <http://www.ibama.gov.br/flora/extincao.htm> >. Acesso em: 28 nov. 2010.

JAHNEL, M.C.; CARDOSO, E.J.B.N.; DIAS, C.T.S. Determinação do número mais provável de microrganismos do solo pelo método de plaqueamento por gotas. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Viçosa, v. 23, p. 553-559, 1999.

JENKINS, S.N.; WAITE, I.S.; BLACKBURN, A.; HUSBAND, R.; RUSHTON, S.P.; MANNING, D.C.; O'DONNELL, A.G. Actinobacterial community dynamics in long term managed grasslands. **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, Dordrecht, v. 95, n. 4, p. 319-334, 2009.

JESUS, E.C.; SUSILAWATI, E.; SMITH, S.L.; WANG, Q.; CHAI, B.; FARRIS, R.; RODRIGUES, J.L.M.; THELEN, K.D.; TIEDJE, J.M. Bacterial Communities in the Rhizosphere of Biofuel Crops Grown on Marginal Lands as Evaluated by 16S rRNA Gene Pyrosequences. **Bioenergy Research**, New York, v. 3, p. 20–27, 2010.

KIEFT, T.L.; RINGELBERG, D.B.; WHITE, D.C. Changes in ester-Linked phospholipid fatty-acid profiles of subsurface bacteria during starvation and desiccation in a porous-medium. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, n. 9, p. 3292–3299, 1994.

KIEFT, T.L.; WILCH, E.; O'CONNER, V.; RINGELBERG, D.B.; WHITE, D.C. Survival and phospholipid fatty acid profiles of surface and subsurface bacteria in natural **sediment microcosms**, Washington, v. 63, p. 1531–1542, 1997.

KOHLER, F.; HAMELIN, J.; GILLET, F.; GOBAT, J. M.; BUTTLER, A Soil microbial community changes in wooded mountain pastures due to simulated effects of cattle grazing. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 278, n. 1/2, p. 327–340, 2005.

KRIŠTŮFEK, V.; ELHOTTOVÁ, D.; CHROŇÁKOVÁ, A.; DOSTÁLKOVÁ, I.; PICEK, T.; KALČÍKA, J. Growth Strategy of Heterotrophic Bacterial Population Along Successional Sequence on Spoil of Brown Coal Colliery Substrate Folia. **Microbiology**, Moscow, v. 50, p. 427–435, 2005.

KROPPESTEDT, R.M. Fatty acid and Menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. In: Goodfellow M, Minnikin DE (Ed.). **Chemical methods in bacterial systematics**. Academic Press: London, 1985. p. 173–199.

LAINE M.M.; HAARIO, H.; JØRGENSEN, K.S. Microbial functional activity during composting of chlorophenol-contaminated sawmill soil. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 30, p. 21–32, 1997.

LEHMAN, R.M.; O'CONNELL, S.P.; GARLAND, J.L.; COLWELL, F.S. Evaluation of remediation by community-level physiological profiles. In: INSAM, H.; RANGGER, A. (Ed.). **Microbial communities: functional versus structural approaches**. Heidelberg: Springer, 1997. p. 263

MACHADO, S. do A.; SIQUEIRA, J.D.P. Distribuição natural da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. In: IUFRO MEETING ON FORESTRY PROBLEMS OF THE GENUS ARAUCARIA, 1., 1979, Curitiba. **Forestry problems of the genus Araucaria**. Curitiba: FUPEF, 1980. p. 4–9.

MALUCHE-BARETTA, C.R.D. **Diversidade microbiana em solos sob florestas de Araucaria angustifolia**. 2007. 184 p Tese(Solos e nutrição de plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

MCNEAL, K.S.; HERBERT, B.E. Volatile organic metabolites as indicators of soil microbial activity and community composition shifts. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, n. 2, p. 579-588, 2009.

MEJIÁ, R.; GÓMEZ-EICHELMANN, M.C.; FERNÁNDEZ, M.S. Escherichia coli membrane fluidity as detected by excimerization of dipyrenylpropane: sensitivity to the bacterial fatty acid profile. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 368, p. 156–160, 1999.

MELLONI, R. Quantificação microbiana da qualidade do solo, In: SILVEIRA, A.P.D.da; FREITAS, S.dos S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007. cap.11, p. 193-218.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; REIS JUNIOR, F.B.; FERNANDES, M.F.; CHAER, G.M.; MERCANTE, F.M.; ZILLI, J.E. **Bioindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade?** Planaltina-DF: EMBRAPA CERRADOS, 2009. p.31.

METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; DIXO, M.; BERNACCI, L.C.; RIBEIRO, M.C.; TEIXEIRA, A.M.G; PARDINI, R. Time-lag in biological responses to landscape changes in a highly dynamic Atlantic forest region. **Biological Conservation**, Oxford, v. 142, p. 1166–1177, 2009.

MITTERMEIER, R.A.; MYERS, N.; THOMSEN, J.B.; DA FONSECA, G.A.B.; OLIVIERI, S. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: Approaches to setting conservation priorities. **Conservation Biology**, Malden, v. 12, n. 3, p. 516-520, 1998.

MONOKROUSOS, N; PAPATHEODOROU, E.M; DIAMANTOPOULOS, J.D.; STAMOU, G.P. Soil quality variables in organically and conventionally cultivated field sites. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 38, p. 1282–1289, 2006.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Editora UFLA, 2006. 729p.

MULDER, C.; WOUTERSE, M.; RAUBUCH, M.; ROELOFS, W.; RUTGERS, M. Can Transgenic Maize Affect Soil Microbial Communities? **Plos Computational Biology**, San Diego, v. 2, p. 1165-1172, 2006.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; DA FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

NILSSON, L.O.; BAATH, E.; FALKENGREN-GRERUP, U.; WALLANDER, H. Growth of ectomycorrhizal mycelia and composition of soil microbial communities in oak forest soils along a nitrogen deposition gradient. **Oecologia**, New York, v. 153, n. 2, p. 375-384, 2007.

NUNES da ROCHA, U.; VAN OVERBEEK, L.; VAN ELSAS, J.D. Exploration of hitherto-uncultured bacteria from the rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, Malden, v. 69, p. 313–328, 2009.

OLSSON, P.A.; BÅÅTH, E.; JACOBSEN, I.; SÖDERSTRÖM, B. The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. **Mycological Research**, Oxford, v.99, p.623–629, 1995.

PAGE-DUMROESE, D.; NEARY, D.; TRETTIN, C. Scientific background for soil monitoring on national forests and Rangelands: workshop; April 29-30, 2008. Denver. **Proceedings...** RMRS-P-59. Fort Collins, U.S. Department of Agriculture; Forest Service; Rocky Mountain Research Station. tech.,2010. 126 p.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil microbiology and biochemistry**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1996.p. 273.

PEACOCK, A.D.; MACNAUGHTON, S.J.; CANTU, J.M.; DALE, V.H.; WHITE, D.C Soil microbial biomass and community composition along an anthropogenic disturbance gradient within a long-leaf pine habitat. **Ecological Indicators**, Amsterdam, v. 1, p. 113–121, 2001.

PEREIRA, J.C. **Interações entre as populações de Actinomicetos e outros organismos na Rizosfera**. Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia, dez. 2000. 15p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 118).

PERUCCELLI, M.; ANTONELI, V. Produção de serrapilheira em uma floresta ombrófila mista sob o domínio do sistema de faxinal; Estudo de caso do faxinal de Papanduva de Baixo-Prudentópolis-PR.In: ENCONTRO NACIONAL DOS GEÓGRAFOS, 16., 2010. Porto Alegre. **Anais...**Porto Alegre, 25 a 31 jul. 2010.

PETERSEN, S.O.; DEBOSZ, K.; SCHJONNING, P.; CHRISTENSEN, B.T.; ELMHOLT, S. Phospholipid fatty acid profile and C availability in wet-stable macro-aggregates from conventionally and organically farmed soils. **Geoderma**, Amsterdam, v. 78, p.181-196, 1997.

PITONZO, B.J.; AMY, P.S.; RUDIN, M. Effect of gamma radiation on native endolithic microorganisms from a radioactive waste deposit site. **Radiation Research**, Lawrence, v. 152, n. 1, p. 64-70, 1999.

POWLSON, D.S.; JENKINSON, D.S. A comparison of the organic matter, biomass, adenosine triphosphate and mineralizable nitrogen contents of ploughed and direct-drilled soil. **Journal of Agricultural Science**, New York, n. 97, p. 713-721, 1981.

PRIHA, O Microbial activities in soils under Scots pine, Norway spruce and silver birch. Academic dissertation in Environmental Microbiology Faculty of Agriculture and ForestryUniversity of Helsinki, 1999. 50p.

RENELLA, G. Microbial diversity and soil functions. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 54, p. 655–670, 2003.

RODRIGUES, R.R.; LIMA, R. A.F.; GANDOLFI, S. ;NAVE, A.G. On the restoration of high diversity forests: 30 years of experience in the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Conservation**, Oxford, v. 142, n. 6, p. 1242-1251, 2009.

ROUSK, J.; BROOKES, P.C.; BAATH, E. Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 75, n. 6, p. 1589-1596, 2009.

ROUSK, J.; BROOKES, P.C.; BÅÅTH, E. The microbial PLFA composition as affected by pH in an arable soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, p. 516-520, 2010.

SALOME, C.; NUNAN, N.; POUTEAU, V.; LERCH, T. Z.; CHENU, C. Carbon dynamics in topsoil and in subsoil may be controlled by different regulatory mechanisms. **Global Change Biology**, Malden, v. 16, n. 1, p. 416-426, 2010.

SHIMIZU, J.Y.; OLIVEIRA, Y.M.M. **Distribuição, variação e usos dos recursos genéticos da araucária no sul do Brasil**. Curitiba: EMBRAPA, URPFC.1981. 13 p.

SILVEIRA, E.L.; PEREIRA, R.M.; SCAQUITTO, D.C.; PEDRINHO, E.A.; VAL-MORAES, S.P.; WICKERT, E.; CARARETO-ALVES; LEMOS, E.G.M. Bacterial diversity of soil under eucalyptus assessed by 16S rDNA sequencing analysis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 1507-1516, 2006.

SCHERBER C.M.; SCHOTTEL, J.L.; AKSAN, A. Membrane phase behavior of *Escherichia coli* during desiccation, rehydration, and growth recovery. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1788, p. 2427–2435, 2009.

SODERBERG, K.H.; PROBANZA, A.; JUMPPONEN, A.; BÅÅTH, E. The microbial community in the rhizosphere determined by community-level physiological profiles (CLPP) an direct soil and cfu-PLFA techniques. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 25, p. 135-145, 2004.

STEENWERTH, K.L.; JACKSON, L.E.; CALDERON, F.J.; STROMBERG, M.R.; SCOW, K.M. Soil microbial community composition and land use history in cultivated and grassland ecosystems of coastal California. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, 34, n. 11, p. 1599-1611, 2002.

STROMBERGER, M.; SHAH, Z.; WESTFALL, D. Soil microbial communities of no-till dryland agroecosystem across an evapotranspiration gradient. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 35, p. 94-106, 2007.

TER BRAAK, C.J.F.; SMILAUER, P. CANOCO **Reference manual and user's guide to Canoco for Windows**: Software for Canonical Community Ordination (Version 4.0). New York:Microcomputer Power, 2002. 353 p.

THOMAZ, E.L. Dinâmica do uso da terra e degradação do solo na bacia do rio Guabiroba – Guarapuava/PR. R. **RA'E GA**, Curitiba, n. 13, p. 109-128, 2007.

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

VELASCO, A.G.V.; PROBANZA, A.; MANERO, F.J.G.; RAMOS, B.; GARCIA, J.A.L. Functional diversity of rhizosphere microorganisms from different genotypes of *Arabidopsis thaliana*. **Community Ecology**, Budapest, v. 10, n. 1, p. 111-119, 2009.

VESTAL, J.R.; WHITE, D.C. Lipid analysis in microbial ecology. **BioSciences**, Washington, n. 39. p. 535-541, 1989.

VEZZANI, F.; MIELNICZUK, M.J. Uma visão sobre qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 743-755, 2009.

WHITE, D.C.; DAVIS, W.M.; NICKELS, J.S.; KING, J.D.; BOBBIE, R.J. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate. **Oecologia**, Berlin, v. 40, p. 51-62, 1979.

WHITE, D.C.; STAIR, J.O.; RINGELBERG, D.B. Quantitative comparisons of in situ microbial biodiversity by signature biomarker analysis. **Journal of Industrial Microbiology**, Hampshire, v. 17, p. 185–196, 1996.

ZAK, D.R.; RINGELBERG, D.; PREGITZER, K.S.; RANDLETT, D.L.; WHITE, D.W.; CURTIS, P.S. Soil microbial communities beneath *Populus grandidentata* Michx. growing at elevated atmospheric CO₂. **Ecological Applications**: A Publication of Ecological Society of America, Massachusetts, v. 6, p. 257–262, 1996.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 3rd ed. New Jersey: Upper Saddle River;Prentice-Hall International, 1996. p. 662.

ZELLES, L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. **Biology and Fertility of Soils**. New York, v. 29, n. 2, p. 111-129, 1999.

ZELLES, L.; BAI, Q.Y. Fatty acid patterns of phospholipid and lipopolysaccharides in environmental samples. **Chemosphere**, Oxford, v. 28, n. 2, p. 391-411, 1994.

ZENOVA, G.M.; GRYADUNOVA, A.A.; OROSHENKO, E. A.; LIKHACHEVA, A. A.; SUDNITSYN, I.I.; POCHATKOVA, T.N.; ZVYAGINTSEV, D.G. Influence of moisture on the vital activity of actinomycetes in a cultivated low-moor peat soil. **Eurasian Soil Science**, New York, v. 40, n. 5, p. 560-564, 2007.

ZHANG, B.G.; BAI, Z.H.; HOEFEL, D.; TANG, L.; WANG, X.Y.; LI, B. J.; LI, Z.M.; ZHUANG, G.Q. The impacts of cypermethrin pesticide application on the non-target microbial community of the pepper plant phyllosphere. **Science of the Total Environment**, Ottawa, v. 407, n. 6, p. 1915-1922, 2009.

ZHONG, W.H.; GU, T.; WANG, W.; ZHANG, B.; LIN, X.G.; HUANG, Q.R. SHEN, W.S. The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 326, n. 1/2, p. 511-522, 2010.

APÊNDICES

Apêndice A - Perfis de ácidos graxos ligados a ésteres de fosfolipídios (EL-PLFAs) encontrados em solos de floresta nativa de araucária (FN), floresta nativa de araucária com distúrbio (ND) e plantio de araucária (PL), em duas épocas seca (E1) e chuvosa (E2), no PETAR

EL-PLFA	FNE1	NDE1	PLE1	FNE2	NDE2	PLE2
Saturado						
*16:0	13,30	13,80	15,93	13,75	14,05	15,71
*18:0	3,42	3,24	4,15	3,86	3,75	4,10
Insaturado						
16:1 ω 7c	1,43	1,93	2,19	1,67	2,37	0,55
16:1 ω 5c	2,66	2,19	3,19	1,62	2,30	3,06
*18:1 ω 5c	ND	1,28	ND	2,12	0,52	ND
*18:1 ω 9t	12,37	11,13	8,79	12,92	13,08	9,70
18:1 ω 9c	7,91	8,38	10,85	6,59	9,35	10,67
18:2 ω 6c	0,32	1,62	2,77	0,44	0,83	0,48
Ramificado						
i15:0	9,06	7,87	7,28	8,72	7,02	6,59
a15:0	4,00	4,13	2,11	4,09	3,13	1,55
i16:0	4,13	3,75	3,94	4,00	3,72	3,80
i17:0	3,30	2,70	2,86	3,51	3,03	2,91
a17:0	2,58	2,43	ND	2,18	2,05	ND
i17:1	7,34	6,35	6,39	7,29	6,48	6,23
10Me18:0	1,39	2,26	4,07	1,15	1,30	4,14
Hidróxi						
15:0 3OH	0,47	1,74	1,22	ND	0,56	1,32
16:1 2OH	3,36	2,26	ND	2,21	0,95	ND
Ciclopropano						
cy17:0	ND	0,29	ND	0,36	0,46	ND
cy19:0	22,62	22,04	23,36	22,71	23,34	26,64
Misturado						
*cy19:0 2OH	0,34	0,58	0,94	0,82	1,71	2,55

*EL-PLFAs não utilizados para as análises multivariadas. ND=Não detectado

Apêndice B - Perfis de ácidos graxos ligados a ésteres de fosfolipídios (EL-PLFAs) encontrados em solos de floresta nativa de araucária (FN), plantio de araucária (PL) e plantio de araucária com queima (PF), em duas épocas seca (E1) e chuvosa (E2), no PECJ

EL-PLFA	FNE1	NDE1	PLE1	PFE1	FNE2	NDE2	PLE2	PFE2
Saturado								
*16:0	14,30	13,20	12,61	15,56	12,86	14,93	14,45	14,73
*18:0	3,24	3,09	2,76	3,82	2,77	3,70	3,63	3,64
Insaturado								
16:1 ω 7c	2,91	3,80	3,96	2,81	3,25	4,60	4,46	4,17
16:1 ω 5c	2,45	2,93	2,71	2,25	2,54	2,01	1,82	1,88
*18:1 ω 5c	1,10	0,86	0,38	ND	2,35	ND	ND	0,42
*18:1 ω 9t	11,85	13,97	13,48	11,74	12,36	16,67	15,56	13,30
18:1 ω 9c	9,27	9,35	8,43	9,33	8,87	11,24	8,98	9,92
18:2 ω 6c	1,27	0,72	2,02	0,68	1,92	0,42	1,32	0,46
Ramificado								
i15:0	8,11	7,66	8,39	8,64	8,01	8,79	8,91	9,60
a15:0	2,30	2,58	2,02	2,22	2,44	1,74	2,45	3,23
i16:0	3,08	2,68	3,06	3,49	2,77	1,76	3,48	3,45
i17:0	1,68	2,10	2,26	2,17	2,01	0,42	2,32	2,94
a17:0	0,67	0,86	0,55	0,67	1,16	ND	ND	0,32
i17:1	7,13	7,52	7,66	7,46	6,81	7,54	7,54	8,09
10Me18:0	ND	1,29	0,80	2,54	1,11	ND	ND	1,92
Hidróxi								
15:0 3OH	1,48	2,62	1,98	1,92	2,30	0,54	ND	1,14
16:1 2OH	0,77	0,27	0,99	0,72	1,34	ND	0,69	0,32
Ciclopropano								
cy17:0	1,11	1,52	1,60	0,89	1,32	ND	ND	0,36
cy19:0	26,12	21,11	22,33	21,95	21,94	24,71	23,38	19,83
Misturado								
*cy19:0 2OH	1,17	1,88	2,01	1,11	1,86	0,93	1,00	0,28

*EL-PLFAs não utilizados para as análises multivariadas. ND=Não detectado

Apêndice C – Caracterização microbiológica do solo, na camada de 0-20 cm de profundidade, em áreas de floresta nativa de araucária (FN), floresta nativa de araucária com distúrbio (ND) e plantio de araucária (PL) no PETAR

Atributos	Época	FN	ND	PL	CV (%)
Desidrogenase ($\mu\text{g TPF.g}^{-1}$ solo.24h)	Seca	32,56 aA ⁽¹⁾	41,84 aA	85,97 aA	45,77
	Chuva	46,65 aA	18,52 aA	16,17 aA	
Arilsulfatase ($\mu\text{g p-nitrofenol.g}^{-1}$ solo.h ⁻¹)	Seca	437,97 aA	459,79 aA	586,21 aA	6,23
	Chuva	490,19 aA	481,66 aA	607,95 aA	
Fosfatase ácida ($\mu\text{g p-nitrofenol.g}^{-1}$ solo.h ⁻¹)	Seca	1046,86 bB	1548,19 aA	1488,79 aA	4,02
	Chuva	1393,9 a A	1742,94 aA	1202,86 bA	
β -glicosidase ($\mu\text{g p-nitrofenol.g}^{-1}$ solo.h ⁻¹)	Seca	160,06 aA	190,34 aA	124,25 aB	11,69
	Chuva	116,95 bB	127,53 abB	175,04 aA	
Nitritadores ($\log \text{NMP.g}^{-1}$ solo)	Seca	1,29 aA	0,64 aA	0,43 aA	79,01
	Chuva	1,02 aA	0,53 aA	0,54 aA	
Nitratadores ($\log \text{NMP.g}^{-1}$ solo)	Seca	2,69 aA	1,88 aA	2,4 aA	55,33
	Chuva	1,98 aA	1,23 aA	1,77 aA	
Desnitrificantes ($\log \text{NMP.g}^{-1}$ solo)	Seca	4,8 bB	5,51 aA	5,94 aB	10,53
	Chuva	5,47 bA	5,9 bA	6,72 aA	
Amonificantes ($\log \text{NMP.g}^{-1}$ solo)	Seca	6,48 aA	6,51 aA	6,46 aA	12,47
	Chuva	6,34 abA	6,96 aA	6,1 bA	
CBM ($\mu\text{gCmic.g}^{-1}$ solo)	Seca	205,37 bA	227,45 bA	362,39 aA	7,2
	Chuva	232,8 bA	257,79 abA	348,89 aA	
NBM ($\mu\text{gN.g}^{-1}$ solo)	Seca	29,77 bB	36,37 bB	58,95 aA	12
	Chuva	67,96 aA	78,3 aA	57,79 aA	
Respiração basal ($\mu\text{gC-CO}_2.\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Seca	0,86 aB	0,97 aB	0,84 aB	7,91
	Chuva	1,59 aA	1,88 aA	1,54 aA	
Respiração induzida ($\mu\text{gC-CO}_2.\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Seca	7,81 abB	7,47 bB	8,32 aA	7,84
	Chuva	8,54 aA	8,95 aA	7,92 bA	
qCO ₂ ($\text{mgC-CO}_2.\text{gCmic}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Seca	5,29 aB	5,32 aB	2,49 bB	20,03
	Chuva	7,09 abA	8,12 aA	4,94 bA	
qMIC (%)	Seca	7,72 aA	7,77 aA	9,17 aA	17,93
	Chuva	1,45 aB	1,66 aB	1,91 aB	

(1) Valores são médias (n=15). Médias seguidas de mesma letra minúsculas na linha não diferem entre áreas numa mesma época e médias seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna não diferem entre as duas épocas, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CBM, carbono da biomassa microbiana; NBM, nitrogênio da biomassa microbiana; qCO₂, quociente metabólico e qMIC, quociente microbiano.

Apêndice D – Caracterização microbiológica do solo, na camada de 0-20 cm de profundidade, em áreas de floresta nativa de araucária (FN), floresta nativa de araucária com distúrbio (ND), plantio de araucária (PL) e plantio de araucária com ocorrência de fogo acidental (PF) no PECJ

Atributos	Época	FN	ND	PL	PF	CV (%)
Desidrogenase ($\mu\text{g TPF.g}^{-1}$ solo.24h)	Seca	115,9 aA ⁽¹⁾	48,43 bA	22,85 bA	27,24 bA	46,85
	Chuva	35,98 aB	42,03 aA	36,18 aA	16,07 aA	
Ariulfatase ($\mu\text{g p-nitrofenol.g}^{-1}$ solo.h ⁻¹)	Seca	636,47 aA	646,16 aA	684,57 aA	702,67 aA	6,10
	Chuva	621,68 aA	672 aA	693,69 aA	547,31 aA	
Fosfatase ácida ($\mu\text{g p-nitrofenol.g}^{-1}$ solo.h ⁻¹)	Seca	2246,22 aA	1739,96 abA	1510,75 bcA	1233,69 cA	5,16
	Chuva	2146,58 aA	2056,33 aA	1667,36 aA	1541,52 aA	
β -glicosidase ($\mu\text{g p-nitrofenol.g}^{-1}$ solo.h ⁻¹)	Seca	323,45 aA	232,1 bA	256,68 abA	252,63 abA	6,31
	Chuva	174,91 aB	169,92 aB	206,04 aB	210,53 aA	
Nitritadores (log NMP.g ⁻¹ solo)	Seca	0,66 abA	0,37 bA	1,16 aA	1,63 aA	60,67
	Chuva	0,00 aB	0,51 aA	0,32 aB	0,36 aB	
Nitratadores (log NMP.g ⁻¹ solo)	Seca	1,24 bA	2,09 abA	2,24 abA	3,12 aA	58,94
	Chuva	1,61 aA	1,5 aA	1,93 aA	2,02 aB	
Desnitrificantes (log NMP.g ⁻¹ solo)	Seca	5,0 aA	5 aB	4,74 aB	5,27 aB	11,37
	Chuva	5,38 aA	5,86 aA	5,68 aA	5,96 aA	
Amonificantes (log NMP.g ⁻¹ solo)	Seca	6,86 bA	6,73 bA	6,57 bA	7,38 aA	7,96
	Chuva	6,13 aB	6,37 aA	6,21 aA	6,6 aB	
CBM ($\mu\text{gCmic.g}^{-1}$ solo)	Seca	358,53 bA	230,85 cB	273,09 bcB	610,45 aA	5,51
	Chuva	380,83 bA	479,51 bA	390,34 bA	750,99 aA	
NBM ($\mu\text{gN.g}^{-1}$ solo)	Seca	71,39 abA	72,42 abB	51,32 bB	88,14 aA	10,62
	Chuva	85,76 abA	128,47 aA	78,95 bA	107,61 abA	
Respiração basal ($\mu\text{gC-CO}_2\text{g}^{-1}\text{.h}^{-1}$)	Seca	2,76 aA	2,19 bA	2,15 bA	1,90 bA	8,23
	Chuva	1,82 aB	2,34 aA	1,94 aA	2,05 aA	
Respiração induzida ($\mu\text{gC-CO}_2\text{g}^{-1}\text{.h}^{-1}$)	Seca	6,81 aA	6,88 aB	7,80 aA	6,76 aB	5,21
	Chuva	6,44 bA	8,02 aA	6,83 bA	7,73 aA	
qCO ₂ (mgC-CO ₂ .gCmic ⁻¹ .h ⁻¹)	Seca	9,75 aA	10,38 aA	8,67 aA	3,19 bA	17,5
	Chuva	4,84 aB	5,26 aB	4,78 aB	3,53 bA	
qMIC (%)	Seca	4,89 bA	2,80 cB	3,58 bcA	8,43 aA	29,44
	Chuva	3,7 bA	4,08 bA	4,06 bA	7,35 aA	

(1) Valores são médias (n=15). Médias seguidas de mesma letra minúsculas na linha não diferem entre áreas numa mesma época e médias seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna não diferem entre as duas épocas, pelo teste de Tukey (p < 0,05). CBM, carbono da biomassa microbiana; NBM, nitrogênio da biomassa microbiana; qCO₂, quociente metabólico e qMIC, quociente microbiano.

Apêndice E – Caracterização química e física do solo, na camada de 0-20 cm de profundidade, em áreas de floresta nativa de araucária (FN), floresta nativa de araucária com distúrbio (ND) e plantio de araucária (PL) no PETAR

Atributos	Época	FN	ND	PL	CV (%)
pH	Seca	4,00 aA ⁽¹⁾	3,8 aA	3,35 bA	2,58
	Chuva	3,88 aA	3,65 bA	3,2 cA	
Al ³⁺ (mmol _c /kg)	Seca	9,02 cA	14,30 bA	47,66 aA	19,41
	Chuva	6,43 cA	12,38 bA	38,29 aB	
H ⁺ +Al ³⁺ (mmol _c /kg)	Seca	62,82 bA	69,12 bA	133,12 aA	3,71
	Chuva	67,49 bA	72,90 bA	132,58 aA	
COT (%)	Seca	2,71 bB	2,87 bB	4,18 aB	28,08
	Chuva	13,07 bA	12,42 bA	17,23 aA	
NT (%)	Seca	0,08 aB	0,09 aB	0,12 aB	29,11
	Chuva	0,19 bA	0,19 bA	0,27 aA	
Relação C/N	Seca	31,15 aB	32,14 aB	34,24 aB	22,91
	Chuva	68,81 aA	65,47 aA	67,02 aA	
K ⁺ (mmol _c /kg)	Seca	2,88 aA	3,13 aA	1,58 bA	11,95
	Chuva	2,11 abB	2,17 aB	1,52 bA	
Ca ²⁺ (mmol _c /kg)	Seca	17,15 aA	12,23 aA	2,30 bA	36,08
	Chuva	18,73 aA	13,70 aA	1,89 bA	
Mg ²⁺ (mmol _c /kg)	Seca	9,15 aB	5,56 bB	2,43 cB	16,16
	Chuva	14,71 aA	11,57 bA	9,00 bA	
S (mg/kg)	Seca	406 bB	359 bA	1439 aB	27,62
	Chuva	732 bA	515 bA	2030 aA	
P (mg/kg)	Seca	8,80 abA	10,92 aA	7,75 bA	12,71
	Chuva	9,79 bA	12,93 aA	6,57 cA	
SB (mmol _c /kg)	Seca	29,18 aA	20,98 aA	6,32 bB	18,21
	Chuva	31,32 aA	23,09 bA	9,37 cA	
CTC (mmol _c /kg em pH 7.0)	Seca	92,01 bB	90,04 bA	139,44 aA	3,39
	Chuva	103,06 bA	100,35 bA	145,01 aA	
Saturação por base (V%)	Seca	30,63 aA	22,13 bA	4,55 cA	27,38
	Chuva	29,60 aA	21,82 bA	6,55 cA	
Silte %	Chuva	12,66 a	12,53 a	12,2 a	22,33
Argila %	Chuva	38,40 b	36,6 b	46,86 a	10,75
Areia %	Chuva	49,2 a	50,93 a	41b	8,54

(1) Valores são médias (n=15). Médias seguidas de mesma letra minúsculas na linha não diferem entre áreas numa mesma época e médias seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna não diferem entre as duas épocas, pelo teste de Tukey (p < 0,05). Os teores de silte, argila e areia se tem somente a avaliação da época chuvosa. COT, carbono orgânico total; NT, nitrogênio total; SB, soma de bases e CTC, capacidade de troca catiônica.

Apêndice F – Caracterização química e física do solo, na camada de 0-20 cm de profundidade, em áreas de floresta nativa de araucária (FN), floresta nativa de araucária com distúrbio (ND), plantio de araucária (PL) e plantio de araucária com ocorrência de fogo acidental (PF) no PECJ

Atributos	Época	FN	ND	PL	PF	CV (%)
pH	Seca	3,49 aA ⁽¹⁾	3,41 aA	3,42 aA	3,6 aA	2,49
	Chuva	3,06 bB	3,00 bB	3,00 bB	3,53 aA	
Al ³⁺ (mmol _o /kg)	Seca	31,93 bA	41,40 aA	43,6 aA	44,46 aA	10,28
	Chuva	27 cA	45,33 aA	34,20 bB	41,73 abA	
H ⁺ +Al ³⁺ (mmol _o /kg)	Seca	171,46 bA	189,4 abB	211,26 aA	192,93 abA	3,83
	Chuva	179,13 bA	231 aA	195,2 abA	191,26 abA	
COT (%)	Seca	7,88 aB	8,76 aB	9,07 aA	7,82 aB	28,36
	Chuva	10,38 aA	12,04 aA	9,87 aA	10,46 aA	
NT (%)	Seca	0,17 aB	0,20 aB	0,18 aB	0,20 aB	25,9
	Chuva	0,33 bA	0,41 Aa	0,31 bA	0,41 aA	
Relação C/N	Seca	47,17 aA	46,70 aA	47,68 aA	37,53 aA	33,36
	Chuva	30,65 aB	31,95 aB	31,50 aB	25,35 aB	
K ⁺ (mmol _o /kg)	Seca	3,07 aA	2,66 abA	2,5 bA	2,98 abA	8,22
	Chuva	2,21 aB	2,51 aA	2,03 aB	2,24 aB	
Ca ²⁺ (mmol _o /kg)	Seca	3,9 aA	3,04 aB	1,01 aB	2,34 aA	49,62
	Chuva	3,63 abA	8,89 aA	8,88 aA	1,33 bA	
Mg ²⁺ (mmol _o /kg)	Seca	4,12 aB	3,47 aB	1,62 bB	2,39 bB	8,12
	Chuva	9,98 aA	9,85 abA	8,07 cA	8,84 bcA	
S (mg/kg)	Seca	1046 bB	943 bA	1769 aA	1223 abA	26,79
	Chuva	1708 aA	1223 aA	1721 aA	1166 aA	
P (mg/kg)	Seca	12,26 bcA	16,86 aB	10,33 cA	15,4 abA	10,51
	Chuva	8,80 cB	22,40 aA	7,73 cB	12,66 bB	
SB (mmol _o /kg)	Seca	11,11 aB	9,18 abB	5,14 cB	7,72 bB	14,88
	Chuva	15,83 abA	21,26 aA	18,99 abA	12,41 bA	
CTC (mmol _o /kg em pH 7,0)	Seca	182,55 aA	198,67 aB	216,41 aA	200,53 aA	3,74
	Chuva	195,06 bA	252,44 aA	214,22 abA	203,8 bA	
Saturação por base (V%)	Seca	6,13 aB	4,81 abB	2,42 cB	3,9 bcB	20,68
	Chuva	8,15 aA	8,32 aA	8,47 aA	6,23 aA	
Silte %	Chuva	8,80 b	7,00 b	12,87 a	7,59 b	35,75
Argila %	Chuva	47,45 a	24,61 d	39,56 b	34,42 c	13,59
Areia %	Chuva	43,74 c	68,37 a	47,56 c	57,97 b	8,21

(1) Valores são médias (n=15). Médias seguidas de mesma letra minúsculas na linha não diferem entre áreas numa mesma época e médias seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna não diferem entre as duas épocas, pelo teste de Tukey (p < 0,05). Os teores de silte, argila e areia se tem somente a avaliação da época chuvosa. COT, carbono orgânico total; NT, nitrogênio total; SB, soma de bases e CTC, capacidade de troca catiônica.