



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

KAROLINE ALVES RAMOS

**IMPACTO DAS ALTERAÇÕES DE USOS DO SOLO NA DIVERSIDADE
FUNCIONAL BACTERIANA**

FORTALEZA

2021

KAROLINE ALVES RAMOS

IMPACTO DAS ALTERAÇÕES DE USOS DO SOLO NA DIVERSIDADE FUNCIONAL
BACTERIANA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais. Área de concentração: Ecologia Terrestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Suzana Cláudia Silveira Martins.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Miranda Martins.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R143i Ramos, Karoline Alves.

Impacto das alterações de usos do solo na diversidade funcional bacteriana / Karoline Alves Ramos. – 2021.

60 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Fortaleza, 2021.

Orientação: Profa. Dra. Suzana Cláudia Silveira Martins.

Coorientação: Profa. Dra. Claudia Miranda Martins.

1. Diversidade funcional. 2. Grupos funcionais bacterianos. 3. Qualidade do solo. I. Título.

CDD 577

KAROLINE ALVES RAMOS

IMPACTO DAS ALTERAÇÕES DE USOS DO SOLO NA DIVERSIDADE FUNCIONAL
BACTERIANA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais. Área de concentração: Ecologia Terrestre.

Aprovada em: 28/07/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Suzana Cláudia Silveira Martins (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Oscarina Viana de Sousa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Arthur Prudêncio de Araújo Pereira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

A Deus pela nova chance de vida e por todas as oportunidades muito bem aproveitadas até aqui.

Aos meus pais, Angelita e José Maria, que me apoiaram em toda a minha caminhada acadêmica. Principalmente a minha mãe, que por muitas vezes ficava acordada junto comigo enquanto eu fazia algo relacionado ao mestrado.

A mim mesma, pela coragem e força para aguentar firme muitas dificuldades que passei, por conseguir escrever essa dissertação mesmo quando tudo a minha volta estava em ruínas. Agradeço a mim mesma por ter conseguido comemorar cada pequeno objetivo alcançado, cada parágrafo escrito, por ter engolido os soluços de choro por debaixo da máscara e seguido firme.

A professora Suzana, pelo exemplo constante de pessoa e de profissional. Há 8 anos eu tenho a felicidade e honra de tê-la como professora, orientadora, conselheira... São tantos atributos que eu não conseguiria descrever em poucas palavras. Agradeço todas as oportunidades, todos os votos de confiança, todas as vezes que me ligava após ler alguma mensagem minha de desespero. Agradeço por ter comemorado comigo, como uma mãe, toda vitória ao longo desses anos.

A professora Claudia, também pelo exemplo de pessoa e de profissional. Pelo exemplo de força, de determinação e, principalmente, por todos os conselhos que tive a oportunidade de escutar. Agradeço por ter sido, junto com a professora Suzana, um abrigo em que eu podia ter confiança e afeto em um ambiente acadêmico, que geralmente não se encontra isso.

Aos meus amigos do Laboratório de Microbiologia Ambiental, que tantas vezes me viram sorrir, chorar, me desesperar, mas que sempre estavam lá para dar aquela palavra de apoio e conforto. Foram 7 anos, que eu tive a oportunidade de trabalhar e conviver no ambiente mais feliz e leve daquele Departamento de Biologia. Agradeço especialmente a Mayara Gama, amiga que compartilhou comigo os momentos mais difíceis e felizes do mestrado, e que sempre sabia me acalmar quando eu achava que algo não tinha jeito; e ao Fernando Cavalcante, que desde o início do mestrado sempre me apoiou, me aconselhou, me ajudou e esteve comigo nos últimos dias de escrita da dissertação, sempre lendo e sugerindo melhorias!

Aos amigos que eu tive a oportunidade de fazer ao longo do mestrado e que nos momentos que eu precisei estiveram dispostos a me ajudar, em especial a Aryelli Magalhães,

que compartilhou comigo os sofrimentos nas disciplinas, os sábados de estudo e realização do projeto, e os surtos na escrita da dissertação.

Ao pessoal do Departamento de Solos, pela disponibilidade nas análises químicas das amostras coletadas. Período de muito sofrimento, mas de muito aprendizado, e que rendeu bons frutos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto em parceria com o Instituto Chico Mendes (ICMBio) que viabilizou as coletas de solo dessa pesquisa, sob chamada CNPq/ICMBio/FAPs nº18/2017, processo: 421350/2017-2.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap) pela concessão de bolsa nos últimos 27 meses.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Alterações no uso do solo resultam numa diferenciação de aporte de matéria orgânica que influencia a disponibilidade de recurso e, em consequência, a sua biodiversidade. Os microrganismos estão amplamente presentes no solo e fazem parte da maioria dos ciclos biogeoquímicos. Assim, variações na diversidade microbiana apresentam-se como um indicador biológico para compreender o impacto dessas alterações do solo nas funções ecológicas dos microrganismos e nas suas funções ecossistêmicas. Tendo em vista que alterações na estrutura vegetacional do solo geram consequências nos recursos disponíveis para os microrganismos e podem alterar sua diversidade funcional, investigamos a abundância e diversidade de grupos bacterianos funcionais em solos com diferentes coberturas vegetais. Nesse contexto, o trabalho foi desenvolvido com 28 amostras de solo de diferentes áreas da Estação Ecológica de Aiuaba – Ceará e zona de entorno, classificadas conforme sua vegetação e uso do solo. Avaliou-se a abundância e diversidade funcional de cinco grupos funcionais (actinobactérias, bactérias celulolíticas, bactérias amilolíticas, bactérias solubilizadoras de fosfato e bactérias diazotróficas de vida livre) presentes nessas amostras e os parâmetros químicos do solo. A abundância foi descrita a partir da contagem de colônias em placas, seguindo metodologia para cada grupo bacteriano e expressa em Log UFC. g⁻¹ e a diversidade funcional foi determinada a partir do índice de Shannon. Além disso, foi realizada uma ANOVA e comparações de médias pelo teste de correlação de Pearson, em seguida uma análise de componentes principais (PCA). As abundâncias das actinobactérias e bactérias diazotróficas foram maiores em área preservada; e em área conservada as maiores abundâncias foram das bactérias celulolíticas e bactérias amilolíticas; já as bactérias solubilizadoras apresentaram maior abundância na área agrícola. Em relação a diversidade funcional, o maior valor foi encontrado na área conservada e o menor em área agrícola, que também apresentou menores valores em nove dos quinze parâmetros químicos analisados. Em contraste a área preservada apresentou maiores valores nos parâmetros químicos também em nove dos quinze determinados; além disso, as correlações foram positivas na maioria dos casos. Os resultados, embora tenham sugerido a redundância funcional dos grupos, indicaram a importância e influência das propriedades do solo e da comunidade vegetal na abundância e diversidade dos grupos funcionais bacterianos.

Palavras-chave: diversidade funcional; grupos funcionais bacterianos; qualidade do solo.

ABSTRACT

Changes in land use result in a differentiation of organic matter input that influences the availability of the resource and, as a consequence, its biodiversity. Microorganisms are widely present in soil and are part of most biogeochemical cycles. Thus, variations in microbial diversity present as a biological indicator to understand the impact of these soil changes on the ecological functions of microorganisms and their ecosystem functions. Considering that changes in soil vegetation structure have consequences on the resources available to microorganisms and can alter their functional diversity, we investigated the abundance and diversity of functional bacterial groups in soils with different vegetation coverages. In this context, the work was developed with 28 soil samples from different areas of the Ecological Station of Aiuaba – Ceará and surrounding area, classified according to their vegetation and land use. The abundance and functional diversity of five functional groups (actinobacteria, cellulolytic bacteria, amylolytic bacteria, phosphate solubilizing bacteria and free-living diazotrophic bacteria) present in these samples and the soil chemical parameters were evaluated. Abundance was described by counting colonies on plates, following the methodology for each bacterial group and expressed as Log CFU g⁻¹ and functional diversity was determined from the Shannon index. In addition, an ANOVA and comparisons of means by Pearson's correlation test were performed, then a Principal Component Analysis (PCA). The abundances of actinobacteria and diazotrophic bacteria were higher in a preserved area; and in conserved areas, the greatest abundances were of cellulolytic bacteria and amylolytic bacteria; the solubilizing bacteria were more abundant in the agricultural area. Regarding functional diversity, the highest value was found in the conserved area and the lowest in the agricultural area, which also showed lower values in nine of the fifteen chemical parameters analyzed. In contrast, the preserved area showed higher values in chemical parameters also in nine of the fifteen determined; moreover, the correlations were positive in most cases. The results, although they suggested the functional redundancy of the groups, presented the importance and influence of soil properties and plant community on the abundance and diversity of bacterial functional groups.

Keywords: functional diversity; bacterial functional groups; soil quality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Mapa de localização da Estação Ecológica de Aiuaba (CE).....	21
Figura 2 –	Mapa amostral da pesquisa	22
Figura 3 –	Ilustração esquemática de um transecto e pontos de coleta	23
Figura 4 –	Valores médios das abundâncias de actinobactérias nos diferentes usos de solo estudados	30
Figura 5 –	Valores médios das abundâncias de bactérias celulolíticas nos diferentes usos de solo estudados.....	31
Figura 6 –	Valores médios das abundâncias de bactérias amilolíticas nos diferentes usos de solo estudados.....	32
Figura 7 –	Valores médios das abundâncias de bactérias solubilizadoras de fosfato nos diferentes usos de solo estudados.....	33
Figura 8 –	Valores médios das abundâncias de bactérias diazotróficas de vida livre nos diferentes usos de solo estudados.....	34
Figura 9 –	Valores de H' por uso de solo	35
Figura 10 –	Análise de componentes principais com dados de abundância e parâmetros químicos.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação dos pontos amostrais coletados.....	24
Tabela 2 – Interpretação de índices de correlação de Pearson	29
Tabela 3 – Valor médio das abundâncias e equabilidade dos grupos funcionais.....	35
Tabela 4 – Médias dos parâmetros químicos do solo em relação aos diferentes usos	37
Tabela 5 – Coeficientes gerais de correlação de Pearson entre os grupos funcionais bacterianos e parâmetros químicos analisados	40

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	O solo e as comunidades bacterianas	14
2.2	Grupos funcionais e sua diversidade	15
2.2	Actinobactérias	16
2.3	Bactérias Celulolíticas	16
2.4	Bactérias Amilolíticas	17
2.5	Bactérias Solubilizadoras de Fosfato	18
2.6	Bactérias Diazotróficas de Vida Livre	19
3	OBJETIVOS	20
3.1	Objetivo Geral	20
3.2	Objetivos Específicos	20
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1	Local de estudo	21
4.2	Delineamento amostral	22
4.3	Quantificação de grupos funcionais bacterianos cultiváveis	25
4.3.1	Contagem de actinobactérias	25
4.3.2	Contagem de bactérias celulolíticas.....	25
4.3.3	Contagem de bactérias amilolíticas	26
4.3.4	Contagem de bactérias solubilizadoras de fosfato.....	26
4.3.5	Contagem de bactérias diazotróficas de vida livre	26
4.4	Análises químicas do solo	26
4.5	Análise dos dados	28
5	RESULTADOS	30
5.1	Abundância dos grupos funcionais nos diferentes usos de solo	30
5.1.1	Actinobactérias	30
5.1.2	Abundância de Bactérias Celulolíticas	31
5.1.3	Abundância de Bactérias Amilolíticas.....	31
5.1.4	Abundância de Bactérias Solubilizadoras de Fosfato.....	32
5.1.5	Abundância de Bactérias Diazotróficas de Vida Livre.....	33
5.2	Equabilidade dos grupos funcionais nos diferentes usos de solo	34

5.3	Análise estatística dos grupos funcionais em relação aos diferentes usos de solo.....	35
5.4	Características químicas do solo	36
5.5	Correlação de dados dos grupos funcionais bacterianos e dos parâmetros químicos do solo	37
5.6	Análise de componentes principais com base nas abundâncias dos grupos funcionais e nos parâmetros químicos do solo	41
6	DISCUSSÃO	43
6.1	Abundância dos grupos funcionais bacterianos cultiváveis	43
6.2	Parâmetros químicos dos diferentes usos do solo	45
6.3	Equabilidade dos grupos funcionais de diferentes usos do solo	46
6.4	Correlação e análise de componentes principais entre grupos funcionais e parâmetros químicos do solo.....	46
7	CONCLUSÃO.....	49
	REFERÊNCIAS.....	50
	APÊNDICE A – MEIOS DE CULTIVO	60

1 INTRODUÇÃO

O solo é um ecossistema natural onde os microrganismos representam grande diversidade biológica e fisiológica (LAUBER *et al.*, 2013), e é caracterizado por acumular matéria orgânica e nutrientes que estimulam o aumento de comunidades microbianas (PUPIN; NAHAS, 2014). Esses microrganismos desempenham importante papel no funcionamento e estabilidade do solo, podendo ser classificados em grupos funcionais de acordo com seus papéis nos serviços ecossistêmicos (PUPIN; NAHAS, 2014; TARDY *et al.*, 2014; ZILLI *et al.*, 2003; TORSVIK; ØVREÅS, 2002), os quais aproximadamente 80% são relacionados às funções do solo (LAL, 2001). Dessa forma, alterações no solo podem causar modificações na matéria orgânica, impactando na diversidade funcional microbiana (TRIVEDI *et al.*, 2019; GOMEZ *et al.*, 2006; FLIEßBACH; MÄDER, 2000).

Os microrganismos do solo são considerados os mais efetivos bioindicadores de distúrbios que afetam o funcionamento do ecossistema (KRAUSE *et al.*, 2014; CHÁVEZ *et al.*, 2011; ZILLI *et al.*, 2003), assim, saber sobre a diversidade taxonômica, metabólica e, principalmente, funcional desses microrganismos configura-se como um método de obtenção de respostas rápidas para a avaliação do solo (SIX *et al.*, 2006). Também se constitui um instrumento efetivo para o monitoramento da biodiversidade ao longo do tempo, permitindo a compreensão do estado da diversidade biológica dos ecossistemas analisados (PEREIRA *et al.*, 2013). Além disso, os microrganismos são considerados componentes vitais do solo, em distribuição e abundância, contribuindo para a sustentabilidade do ecossistema devido a sua sobrevivência, ocupação cosmopolita, versatilidade metabólica e potência de tolerância ao estresse (SINGH *et al.*, 2015; NAEEM; WRIGHT, 2003).

Comunidades microbianas são dependentes das propriedades do solo e são ligadas as comunidades vegetais presentes nesse ecossistema (LANGE *et al.*, 2014). A diversidade dessas comunidades garante a funcionalidade dos ecossistemas terrestres, e pode ser explicada por fatores abióticos, como clima, pH e propriedades físico-químicas do solo e por fatores bióticos, como características funcionais das plantas (VRIES *et al.*, 2012). Dessa forma, qualquer perda na diversidade, como consequência do uso da terra (desmatamento para uso agrícola), por exemplo, pode reduzir sua funcionalidade (DELGADO-BAQUERIZO *et al.*, 2016; GRAHAM *et al.*, 2014; ARAUJO *et al.*, 2017; SINGH *et al.*, 2009).

A diversidade funcional reflete a capacidade dos microrganismos em desempenhar funções relacionadas como a ciclagem de nutrientes, de decomposição e mineralização (KANDELER *et al.*, 1996; ZHANG *et al.*, 2012; MARINARI *et al.*, 2013). Também é fundamental na manutenção de processos especializados do solo em ecossistemas terrestres e à qualidade do solo (TRIVEDI *et al.*, 2019; ZILLI *et al.*, 2003). Ela é alterada em diferentes usos da terra e há grupos funcionais que dominam em cada sistema de uso dependendo do manejo do solo, que tem efeitos diretos nas suas propriedades químicas, físicas e biológicas (MENDES *et al.*, 2015). Além do uso do solo, a dinâmica da vegetação também tem um papel importante na estruturação da diversidade microbiana do solo (LAUBER *et al.*, 2013). Mudanças no uso da terra ocasionando alterações nas comunidades bacterianas e, conseqüentemente, suas funções ecológicas são descritas por Lange *et al.* (2015); Gomez *et al.* (2006) e Frey *et al.* (2004), dessa forma, o estudo da dinâmica funcional das comunidades microbianas representa uma fonte de respostas em relação as alterações do solo (MENDES *et al.*, 2015).

A maioria dos processos microbianos ocorre na camada mais superficial do solo, onde a matéria orgânica, principal recurso para o aumento de microrganismos e suas atividades, é mais abundante (LANGE *et al.*, 2015; HEROLD *et al.*, 2014; KRISHNA *et al.*, 2012). Essa constatação é importante para entender como a utilização do solo está impactando na alteração dos recursos disponíveis e, conseqüentemente, na diversidade dos microrganismos. Assim, a diversidade funcional de grupos microbianos torna-se um indicador para possíveis alterações irreversíveis que podem ocorrer e prejudicar a qualidade do solo e conseqüentemente as funções ecológicas prestadas por esses microrganismos.

Diante do exposto, esse trabalho propõe-se responder a seguinte pergunta qual impacto de diferentes formas de uso do solo na diversidade funcional microbiana do solo e quais são os grupos funcionais mais afetados. A hipótese é que mudanças na estrutura vegetacional alteram a disponibilidade de recursos para comunidades microbianas e, assim, modificam a diversidade de grupos bacterianos funcionais do solo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O solo e as comunidades bacterianas

Dentro dos ecossistemas terrestres, parte da biodiversidade encontra-se no solo e os impactos sobre a diversidade e composição dos microrganismos no desempenho dos ecossistemas ainda é incipiente (WAGG *et al.*, 2014; JACOBSEN; HJELMSØ, 2014). No solo, grande parte dos serviços ambientais são prestados por organismos vivos. A biodiversidade da microbiota tem recebido importância devido a sua participação na sustentabilidade e funcionalidade dos solos, principalmente por serem responsáveis por reações bioquímicas relacionadas a transformação da matéria orgânica, gênese do solo, processos de composição, ciclagem de nutrientes, entre outros (ARIAS *et al.*, 2005, MOREIRA; SIQUEIRA 2006, ANDREOLA; FERNANDES 2007).

Com a contribuição da microbiota com a liberação constante de nutrientes da matéria orgânica para plantas e outros macrorganismos do solo (TURNER *et al.*, 2003), a redução da diversidade microbiana nesse solo é indicativa da perda da sua qualidade, definida como a capacidade do solo de sustentar a produtividade biológica e assim as suas funções ecológicas (ZILLI *et al.*, 2003).

A mudança e intensificação no uso da terra são considerados influentes distúrbios que afetam a estrutura e diversidade de comunidades microbianas (FICHTNER *et al.*, 2014), registrando uma relação importante entre a diversidade funcional microbiana do solo e as funções do ecossistema (POWELL *et al.*, 2015; SINGH *et al.*, 2014), sendo essas relações importantes para a compreensão do ecossistema do solo (TRIVEDI *et al.*, 2019). Além disso, o manejo no uso do solo pode diminuir sua diversidade microbiana e assim interferir nos serviços ecossistêmicos, pois para a manutenção da ciclagem de nutrientes, por exemplo, são necessárias espécies microbianas diferentes (BAUMANN *et al.*, 2013; FREY *et al.*, 2004).

Para o uso agrícola, o manejo do solo inclui adubação da terra, com uso de compostos e esterco, que, além de fornecerem nutrientes para as plantas, adicionam matéria orgânica no solo (NAIR; NGOUAJIO, 2012; BUYER *et al.*, 2010), sendo considerado um fator de aumento de diversidade funcional nas comunidades microbianas desse ecossistema (BENDING *et al.*, 2002). Porém, para serem utilizadas para atividades agrícolas, áreas de vegetação nativa são limpas através de corte e queima, que podem remover a matéria orgânica das camadas

superficiais do solo, com a consequente perda de nutrientes e da composição e diversidade microbiana (JASPER, 2007; CERTINI *et al.*, 2005).

Diferentemente de solos com manejo agrícola, solos estáveis e sustentáveis são caracterizados por alto nível de atividade biológica e elevada diversidade microbiana associada à capacidade de liberar nutrientes (NAIR; NGOUAJIO, 2012; FRIEDEL *et al.*, 2001). Uma análise da diversidade microbiana entre solos perturbados e não perturbados fornece uma resposta precisa de como se encontra o ecossistema terrestre (MUÑOZ-ROJAS *et al.*, 2016; MENDES *et al.*, 2015; GONZALEZ-QUIÑONES *et al.*, 2011). Em solos não perturbados, há maiores insumos de matéria orgânica, relacionados a estruturas vegetacionais mais diversas, que liberam diferentes exsudatos radiculares e que, consequentemente, proporcionam comunidades microbianas mais abundantes e funcionais (ARAUJO *et al.*, 2017; DELGADO-BAQUERIZO *et al.*, 2016; LANGE *et al.*, 2015).

2.2 Grupos funcionais e sua diversidade

O conceito de grupos funcionais tem sido amplamente discutido nos últimos anos (KENNEDY; SMITH, 1995; MARINARI *et al.*, 2013). A classificação dos grupos funcionais que levam em consideração o meio da obtenção de carbono e energia limita as informações disponíveis (KENNEDY; SMITH, 1995), portanto, leva-se em consideração a classificação dos microrganismos em grupos funcionais de acordo com a sua participação em um mesmo processo de transformação de nutrientes do solo, ou seja, de sua função dentro dos ciclos biogeoquímicos (MARINARI *et al.*, 2013; TORSVIK; ØVREÅS, 2002; ANDRADE; NOGUEIRA, 2005).

Utiliza-se um índice matemático para compreender a diversidade desses grupos microbianos em solo, sendo esse índice o de diversidade funcional (KENNEDY, 1999). Considerado uma medida de heterogeneidade, o índice de Shannon é comumente utilizado para determinar essa diversidade funcional (GOMEZ *et al.*, 2006; SINGH *et al.*, 2014), pois analisa um maior conteúdo de informações de um grupo de indivíduos de modo independente e aleatória (MARTINS; SANTOS, 1999).

A diversidade microbiana no solo está relacionada positivamente a multifuncionalidade em ecossistemas terrestres (DELGADO-BAQUERIZO *et al.*, 2016) e a medida dessa funcionalidade contribui para a compreensão dos processos ecológicos no ecossistema e, principalmente, a eficiência da ciclagem de nutrientes no solo (ZILLI *et al.*, 2003; ZAK *et al.*,

1994). Índices como o de diversidade funcional, possibilitam a avaliação da atividade microbiana, seu tamanho e sua biodiversidade (ZILLI *et al.*, 2003), além de sua importância na manutenção da diversidade, decomposição e reciclagem de nutrientes das plantas WAGG *et al.*, 2014; TORSVIK; ØVREÅS, 2002).

2.2 Actinobactérias

As actinobactérias são um filo de bactérias filamentosas Gram-positivas, composto por cerca de 232 gêneros, reconhecido por sua heterogeneidade funcional e constituem um dos maiores grupos microbianos (BARKA *et al.*, 2016; SATHYA, 2017). Possui distribuição cosmopolita, porém de modo mais abundante em solos (SILVA *et al.*, 2012; OSKAY *et al.*, 2004), principalmente naqueles alcalinos e ricos em matéria orgânica (LIMA *et al.*, 2014; MARTINS *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2015), onde exercem papel funcional no equilíbrio ecológico desse ecossistema. Esse grupo bacteriano possui ampla diversidade morfológica, que se diferem na apresentação de micélios das mais diversas cores, além da capacidade de produzir pigmentos carotenoides e melanóides perceptíveis em meio de cultivo (BARKA *et al.*, 2016).

Fatores no solo, como temperatura, pH e disponibilidade de matéria orgânica influenciam o crescimento das actinobactérias (ARIFUZZAMAN *et al.*, 2010; BARKA *et al.*, 2016), mas se destacam pela capacidade adaptativa as mais diversas condições ambientais (BERNARDES; SANTOS, 2006), além de sua relevância para a manutenção e colonização de diversos ambientes (GONZÁLEZ, 2005).

Esse grupo bacteriano é amplamente estudado devido ao seu potencial enzimático, reconhecido em pesquisas de aplicação biotecnológica e na agricultura (GUPTA *et al.*, 2003, PALANIYANDI *et al.*, 2014). No solo, as actinobactérias participam de diversos processos que são essenciais para o funcionamento desse ecossistema, tanto na ciclagem de nutrientes, disponibilizando-os para as plantas (BHATTI *et al.*, 2017, HAMDALI *et al.*, 2008), quanto na decomposição da matéria orgânica (CHATER *et al.*, 2010).

2.3 Bactérias Celulolíticas

O constituinte mais abundante do solo é a celulose, que é um polímero linear de moléculas de glicose associadas por ligações glicosídicas β -1,4, catalisadas por um grupo de enzimas chamada de celulasas (MAKI *et al.*, 2009). A celulose é o principal componente da estrutura da fibra vegetal e representa um dos mais importantes compostos que provém de

processos hidrolíticos, durante o processo de decomposição e formação da matéria orgânica, mediados pela ação das celulases, que são produzidas pelas bactérias celulolíticas (YANG *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2011).

As bactérias celulolíticas constituem um grupo bacteriano bastante disseminado no solo e tem papel importante nesse ecossistema por fornecer fontes de carbono que melhoram a fertilidade, além de manter o equilíbrio de nutrientes do solo por meio da decomposição de resíduos vegetais, que contém celulose (KORRA *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2014).

A atividade funcional desse grupo bacteriano aumenta em ambientes com maior diversidade de plantas, promovendo maior entrada de carbono no ecossistema do solo (LANGE *et al.*, 2015), sendo possível considerar que a degradação do solo pode ocasionar o declínio da diversidade de bactérias como essas e assim influenciar a sustentabilidade do ecossistema (SINGH *et al.*, 2015).

2.4 Bactérias Amilolíticas

O amido é considerado como uma das maiores porções de carbono presentes no solo, sendo o mais abundante composto orgânico nesse ecossistema, representando cerca de metade do carbono da biosfera (FLORENCIO *et al.*, 2012). Amplamente encontrado na natureza, principalmente em sementes, raízes e produtos agrícolas, configura-se um importante reserva de nutrição para plantas (MORAES, 2004; NUNEZ-SANTIAGO *et al.*, 2004). A sua disponibilidade faz do amido um dos principais substratos nos processos de ciclagem de nutrientes (JOSHI *et al.*, 1993; FIORETTO *et al.*, 2001).

As amilases constituem um grupo de enzimas que hidrolisam o amido, um dos mais importantes polissacarídeos de reserva do reino vegetal (GUPTA *et al.*, 2003), e representam cerca de 30% da produção de enzimas do mundo (VAN DER MAAREL *et al.*, 2002). Essas enzimas podem ter as mais diversas fontes, como animal, vegetal e de microrganismo, sendo as do solo predominantemente de origem microbiana (INSAM, 2001), assim, os microrganismos que produzem essas enzimas, as bactérias amilolíticas, influenciam nas propriedades químicas e físicas do solo, além da disponibilidade de nutrientes para outros microrganismos e espécies vegetais (JEFFREY *et al.*, 2007; ALLISON *et al.*, 2007).

As bactérias amilolíticas de solo são amplamente estudadas (SINGH; RANI, 2014; SINGH *et al.*, 2016; RAMOS *et al.*, 2018; SHARMA *et al.*, 2018), principalmente pela sua importância como produto de armazenamento em produtos agrícolas economicamente

importantes, na indústria têxtil, alimentícia e farmacêutica. Além disso, as enzimas produzidas por essas bactérias são de grande interesse e estudo devido a participação delas nos processos de ciclagem de nutrientes, ou seja, participam da hidrólise de componentes da biomassa vegetal e matéria orgânica (GRÉGGIO; NAHAS, 2007).

2.5 Bactérias Solubilizadoras de Fosfato

O fósforo é um importante macronutriente utilizado por plantas e microrganismos, e que, embora seja um fator limitante para o desenvolvimento de culturas agrícolas, pode ser encontrado nas mais diversas formas (orgânicas e inorgânicas) (FERNÁNDEZ, 2015; VANCE 2001). O fósforo é um dos nutrientes menos solúveis existentes no ambiente, com menos de 5% do fósforo total do solo disponível para plantas (DOBBELAERE, VANDERLEYDEN; OKON *et al.*, 2003). No solo, o fósforo é modificado pela ação de microrganismos, por meio da solubilização de fosfatos, em que esse macronutriente passa por processos biogeoquímicos para que finalmente possa ser disponibilizado para as plantas (CHAGAS JÚNIOR, 2010). No solo, o fósforo é essencial para o crescimento e desenvolvimento de plantas, participando de atividades fisiológicas, como a divisão celular e fotossíntese (BEHERA *et al.*, 2014; SHARMA; KUMAR; TRIPATHI, 2017).

Alguns microrganismos do solo estão diretamente envolvidos no ciclo do fósforo no solo, esse grupo específico é chamado de bactérias solubilizadores de fosfato, e são capazes de mineralizar e solubilizar o fósforo inorgânico (BEHERA *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2014). Essa solubilização geralmente ocorre na região das raízes dos vegetais, por meio da acidificação, que acontece durante a liberação de prótons pelas plantas e de ácidos orgânicos produzidos pelos microrganismos (REIS *et al.*, 2008). Esse processo é de extrema importância, pois as plantas apenas absorvem o fosfato na forma solúvel, ou seja, aquele que foi disponibilizado pela solubilização realizada pelos microrganismos (SHARMA; KUMAR; TRIPATHI, 2017).

As bactérias solubilizadoras de fosfato representam boa parte da população bacteriana cultivável do solo e sua atividade e diversidade depende das propriedades do referido ecossistema, como matéria orgânica disponível, propriedades químicas e físicas, além de influência antrópica (adubação, atividade agrícola) (BEHERA *et al.*, 2014). Esses autores ainda afirmam que as maiores populações de bactérias solubilizadoras de fosfato estão presentes em solos agrícolas e pastagens, portanto têm função crucial na manutenção dos nutrientes do solo, por estimularem o crescimento e desenvolvimento de plantas (CHAGAS JÚNIOR *et al.*, 2010).

2.6 Bactérias Diazotróficas de Vida Livre

Diversos nutrientes no solo, como o nitrogênio, não estão disponíveis para a maioria dos organismos. Para que sejam disponibilizados contamos com a ação de microrganismos, como as bactérias diazotróficas, que utilizam o nitrogênio gasoso como fonte de energia (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Esse processo é chamado de fixação biológica de nitrogênio, e é realizado devido a capacidade desses microrganismos de catalisarem a redução do nitrogênio molecular à amônia e incorporar esse nitrogênio nas suas moléculas orgânicas, sendo essa capacidade determinada pelo complexo enzimático da nitrogenase, que essas bactérias diazotróficas possuem (NEWTON, 2000; SANTI *et al.*, 2013).

A população das bactérias diazotróficas no solo está ligada as propriedades da enzima nitrogenase, que rege seu metabolismo, sendo elas a alta sensibilidade ao oxigênio, necessidade de metais como ferro e molibdênio e ainda um ambiente que o nitrogênio não esteja disponível (REIS; TEIXEIRA, 2005).

As bactérias diazotróficas representam um importante grupo no suprimento de nitrogênio, principalmente no solo, sendo possível serem encontradas de forma associadas a plantas ou de vida livre (MOREIRA, 2010). Em sua forma livre participam de ciclos biogeoquímicos importantes no solo e a perda da diversidade funcional desses microrganismos pode afetar a ciclagem de nitrogênio (PHILIPPOT *et al.*, 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a resposta da diversidade funcional bacteriana à diferentes formas de uso do solo e a relação dessa diversidade com as propriedades edáficas.

3.2 Objetivos Específicos

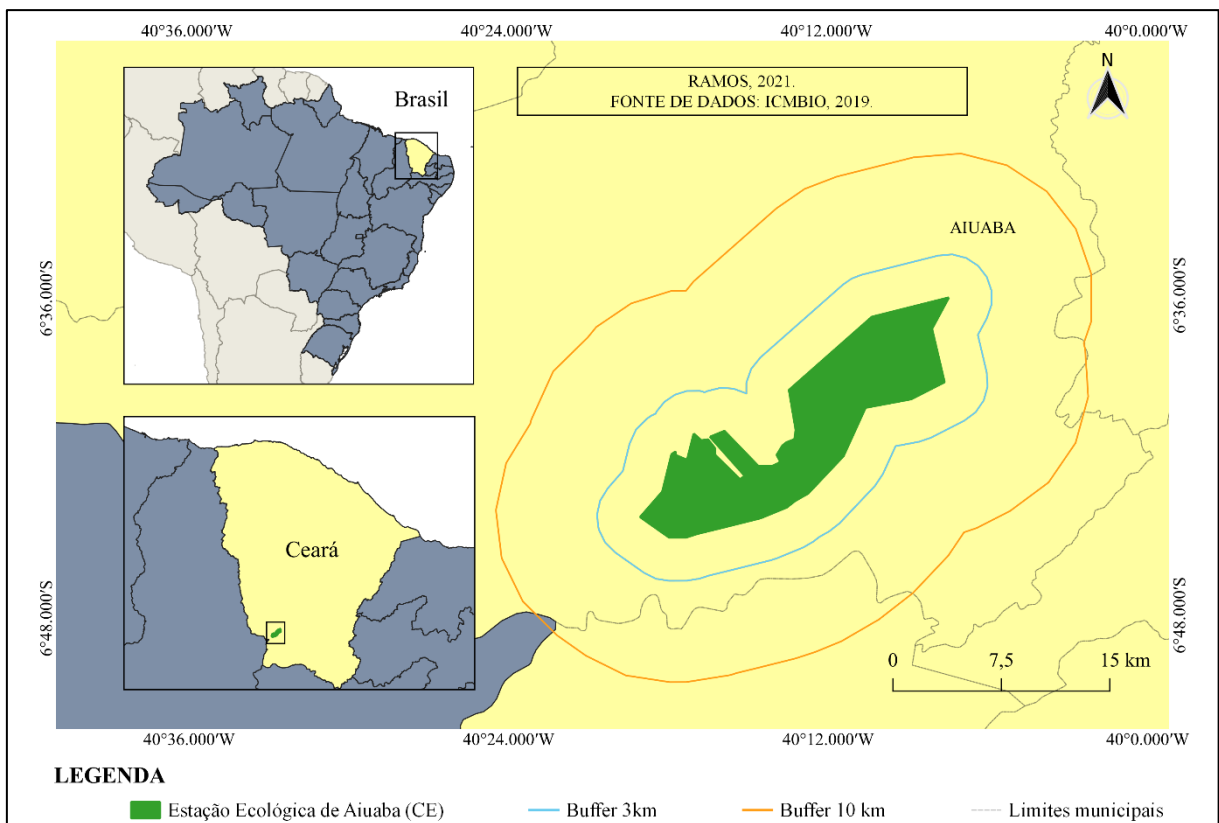
- Determinar a abundância de cinco grupos funcionais bacterianos em diferentes usos do solo, sendo eles: actinobactérias, bactérias celulolíticas, bactérias amilolíticas, bactérias solubilizadoras de fosfatos e bactérias diazotróficas de vida livre;
- Determinar as características químicas do solo (pH, sódio, potássio, cálcio, magnésio, ferro, cobre, zinco, manganês, fósforo, acidez potencial, carbono orgânico total, nitrogênio total e condutividade elétrica);
- Determinar a equabilidade dos grupos funcionais microbianos;
- Relacionar a diversidade funcional dos grupos bacterianos com as características químicas do solo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local de estudo

O estudo foi desenvolvido com amostras de solo oriundas da Estação Ecológica de Aiuaba – ESECA (Figura 1), unidade de conservação (UC) localizada no município de Aiuaba – Ceará, e nas áreas de entorno desta UC. Localizada no sudoeste do Estado do Ceará, entre as coordenadas 6°36'01'' a 6°44'35'' de Latitude Sul e 40°07'15'' a 40°19'19'' de Longitude Oeste, a ESECA configura-se por clima quente e semiárido, apresentando uma temperatura média anual de 26°C (LEMOS; MEGGURO, 2010).

Figura 1 – Mapa de localização da Estação Ecológica de Aiuaba (CE)



Fonte: Autora, 2021.

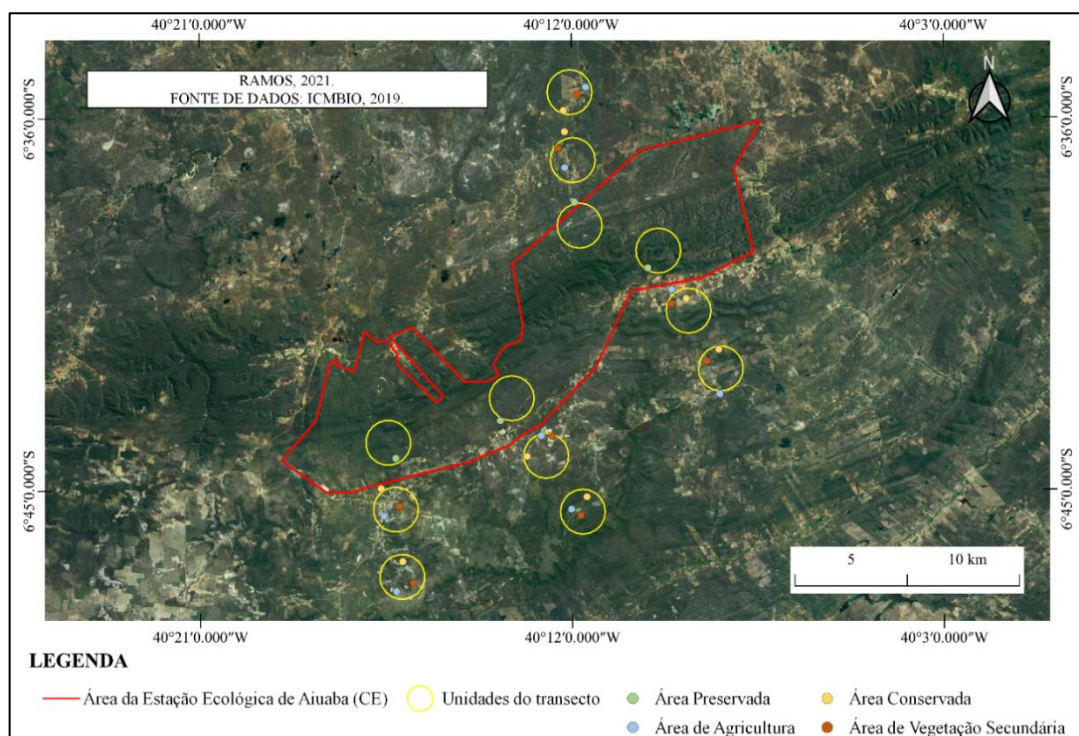
A Estação Ecológica de Aiuaba abrange uma área de cerca de 11.700 ha, na qual consiste uma vegetação conservada em 81% de sua área total, 10% de vegetação secundária e 5% apresentando pastagens, plantações e solo exposto. Essa unidade de conservação possui a Caatinga como bioma predominante (MANTOVANI *et al.*, 2017). Além disso, segundo esses mesmos autores, na unidade predominam solos luvisolo crômico, latossolo vermelho-amarelo e planossolo nátrico.

Baseado em observações por satélite e de campo, foi possível caracterizar a zona de entorno dessa ESECA com a predominância de agricultura. Devido a inexistência de bibliografia específica, durante as coletas de solo os moradores da região foram consultados e relataram que há predominantemente o plantio de culturas de milho e feijão na estação chuvosa e após a colheita (período de seca) essa área de plantio é utilizada para a pastagem de animais. A preparação da terra para essa pequena atividade agropecuária é realizada geralmente pelo desmatamento da vegetação nativa, sendo a madeira utilizada como lenha e para confecção de cercas. Há também a utilização do fogo para remover ervas daninhas, que dificultam o desenvolvimento de culturas, caracterizando-se como uma prática economicamente exequível para os agropecuaristas.

4.2 Delineamento amostral

As coletas de solo foram realizadas em abril de 2018, final do período chuvoso na região. Foram selecionadas quatro transeções (réplicas) de 8 km (Figura 2), partindo de dentro da Unidade de Conservação em direção às áreas externas, demarcadas em três unidades. Em cada transecto havia uma unidade controle (dentro da ESECA), uma unidade a 1 km da borda da UC (zona de amortecimento) e uma unidade periférica, todas com um diâmetro de 2 km e 1 km distantes entre si (Figura 2).

Figura 2 – Mapa amostral da pesquisa

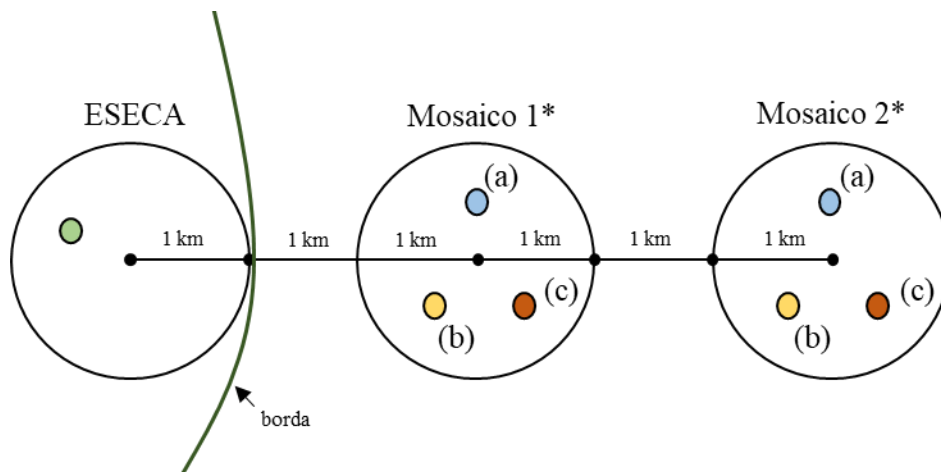


Fonte: Autora, 2021

Para determinar as unidades em que aconteceram as amostragens, anteriormente às coletas foram realizados vôos com um VANT (veículo aéreo não tripulado), Modelo DJI Inspire 1, munido de câmera X3 e câmera MAPIR Survey 2, com filtros Red e Infra-Vermelho próximo (NIR). Esses vôos foram previamente programados com o uso do programa Ground Station Software (<https://www.ugcs.com/>), em que foram delimitadas a distância focal, a altura do vôo e, conseqüentemente, a resolução espacial da imagem.

A partir disso foram realizadas a junção das imagens com superposição mínima de 70% no programa AGISOFT PHOTOSCAN e ao longo dos transectos e suas réplicas foram demarcadas áreas de acordo com o uso do solo, identificadas como área preservada, dentro da ESECA e tida como controle, e duas áreas mais externas com diferentes fisionomias, indicadas como (Mosaico 1) e (Mosaico 2). Essas unidades mais externas foram identificadas e nomeadas em função dos usos do solo realizado em cada uma e foram descritas como: área de agricultura (a), área conservada (b) e área de vegetação secundária (c) (Figura 3). Com distância mínima de 3 km entre as quatro transeções para garantir a independência amostral, foram realizados 7 pontos de coleta em cada uma.

Figura 3 – Ilustração esquemática de um transecto e pontos de coleta



Fonte: Autora, 2021.

Nessa pesquisa, os diferentes pontos amostrados e identificados quanto ao uso do solo foram determinados como área preservada homogênea em pontos dentro da unidade de conservação e caracterizado pela presença de plantas nativas e estágio de sucessão ecológico avançado; como área de agricultura em pontos com cultivo agrícola de milho e feijão; como área conservada em pontos com manchas de vegetação nativa em estágio de sucessão ecológico avançado, porém fora da unidade de conservação e, por fim, como área de vegetação secundária

em pontos de vegetação nativa em estágio de sucessão intermediário e que anteriormente foram ocupados por outras comunidades biológicas (Adaptado de Projeto ICMBio, 2017).

Em cada ponto, as amostras de solo foram coletadas numa profundidade de 0-20 cm e consistiram em cinco subamostras de 850 gramas (LUCENA *et al.*, 2013). No total foram coletadas 28 amostras de solo (Tabela 1) em 12 áreas, de pontos selecionados por método estatístico de estratificação aleatória, que foram homogeneizadas assepticamente e acondicionadas em sacos plásticos etiquetados e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMAB) do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Tabela 1 – Relação dos pontos amostrais coletados

Ponto Amostral	Latitude	Longitude	Uso do Solo
PRE45	-6,73705	-40,2711	Preservada
PRE98	-6,63398	-40,1988	Preservada
PRE116	-6,72196	-40,229	Preservada
PRE156	-6,66051	-40,1693	Preservada
A56	-6,76033	-40,276	Agricultura: milho e feijão
A68	-6,7908	-40,2709	Agricultura: milho e feijão
A78	-6,58763	-40,1943	Agricultura: milho e feijão
A89	-6,62007	-40,2028	Agricultura: milho e feijão
A119 (A122)	-6,72803	-40,2125	Agricultura: milho e feijão
A149	-6,75766	-40,2003	Agricultura: milho e feijão
A155	-6,66926	-40,1598	Agricultura: milho e feijão
A180	-6,71132	-40,1404	Agricultura: milho e feijão
C49	-6,74924	-40,277	Conservada
C61	-6,77864	-40,2684	Conservada
C83	-6,59704	-40,2033	Conservada
C86	-6,60558	-40,2028	Conservada
C128	-6,73637	-40,2182	Conservada
C144	-6,75271	-40,1941	Conservada
C160	-6,67286	-40,1539	Conservada
C170	-6,69342	-40,1408	Conservada
S52	-6,75653	-40,2698	Secundária
S69	-6,78738	-40,2642	Secundária
S76	-6,59051	-40,1977	Secundária
S91	-6,61225	-40,2055	Secundária
S121	-6,72813	-40,2081	Secundária
S140	-6,76022	-40,1965	Secundária
S158	-6,67485	-40,1599	Secundária
S168	-6,69818	-40,1457	Secundária

4.3 Quantificação de grupos funcionais bacterianos cultiváveis

Foram quantificados os grupos funcionais bacterianos por meio de contagem de colônias em placa, a fim de estimar o potencial da comunidade bacteriana no solo dos diferentes pontos coletados. Os procedimentos de quantificação foram realizados em triplicata com três ensaios, sendo essa abundância relativa considerada para os seguintes grupos funcionais: actinobactérias, bactérias celulolíticas, amilolíticas, diazotróficas de vida livre e solubilizadoras de fosfato.

Para tanto, cada amostra de solo foi submetida a uma diluição, em que se utilizaram 10 gramas de solo para cada 90 mL de solução salina a 0,85%. Essa diluição foi submetida a agitação orbital (150 rpm) por 30 minutos em temperatura ambiente e a partir da suspensão foram preparadas diluições decimais em série (10^{-2} a 10^{-6}) através da transferência de 1 mL para tubos contendo 9 mL de solução salina a 0,85%. A partir disto, uma suspensão de 0,1 mL das diluições foi estriada em placas pelo método *spread plate* com o auxílio de alça de Drigalsky sob a metodologia adequada para cada grupo microbiano. Destaca-se que foi adicionado em todos os meios de cultivo utilizados, após autoclavagem e antes da preparação das placas, uma alíquota de 2,5 mL. L⁻¹ de nistatina padrão microbiológico (10.000 UI/ml) a fim de inibir o crescimento de fungos possivelmente presentes nas amostras de solo.

De forma a avaliar a abundância desses grupos bacterianos foram consideradas para a contagem de colônias apenas as placas de diluições que apresentaram número de colônias entre 30-300 e os resultados foram expressos como unidades formadoras de colônia por grama de solo (UFC.g⁻¹) e convertidos para Log UFC. g⁻¹ para uma melhor apresentação dos dados.

4.3.1 Contagem de actinobactérias

As actinobactérias foram contabilizadas a partir do isolamento no meio caseína dextrose ágar (CDA) (KUSTER; WILLIAMS, 1964; ARIFUZZAMAN *et al.*, 2010) (Apêndice A). As placas preparadas em triplicata foram incubadas por sete dias a 28°C (± 2) e após esse período realizou-se a contagem das colônias.

4.3.2 Contagem de bactérias celulolíticas

Para esse grupo microbiano foi utilizado o meio ágar de celulose modificado com Vermelho Congo (HENDRICKS *et al.*, 1995) (Apêndice A). As placas foram preparadas em triplicata, inoculadas e incubadas durante sete dias a 28°C (± 2) e, após esse período, àquelas

placas que apresentaram 30-300 colônias foi adicionado 10mL de solução 1M de NaCl por 30 minutos, que revelou o halo de degradação em torno das colônias. A contagem das colônias foi realizada considerando somente aquelas que apresentaram halo de degradação revelado pela solução de NaCl.

4.3.3 Contagem de bactérias amilolíticas

As amilolíticas foram quantificadas com o uso de um meio contendo 2% de amido (Apêndice A). As placas foram preparadas em triplicata, inoculadas e incubadas durante 24hrs a 37°C e depois incubadas durante sete dias a 28°C (± 2) (KANNAN, 1996; CAPPUCCINO; SHERMAN, 1996). Após o período de incubação, as colônias bacterianas em placa foram inundadas por uma solução de iodo Gram (lugol a 0,01 M) e observou-se a presença de halo ao redor das colônias, indicativo da degradação do amido. A contagem das colônias foi realizada considerando somente aquelas que apresentaram halo de degradação.

4.3.4 Contagem de bactérias solubilizadoras de fosfato

Para esse grupo microbiano foi utilizado o meio de ágar de Pikovskaya (PVK) contendo fosfato tricálcico insolúvel (Apêndice A). As placas foram preparadas em triplicata, as diluições seriadas foram inoculadas e submetidas a uma incubação durante dez dias a 28°C (± 2) (PIKOVSKAYA, 1948; GOENADI; SUGIARTO, 2000). Após o período de incubação observaram-se as colônias que apresentarem zonas de halo, indicativas da precipitação de fosfato, e apenas essas foram consideradas para a contagem.

4.3.5 Contagem de bactérias diazotróficas de vida livre

O número de colônias das bactérias fixadoras de nitrogênio de vida livre foi determinado com o uso de um meio isento de nitrogênio (WILSON; KNIGHT, 1952; PARK *et al.*, 2005), o meio de Burk (Apêndice A). As placas foram preparadas em triplicata, inoculadas e incubadas durante sete dias a 30°C (± 2), procedendo com a contagem das colônias.

4.4 Análises químicas do solo

As amostras de solo coletadas foram submetidas a avaliação de suas características químicas de acordo com metodologia definida pelo Manual de Métodos de Análise de Solo (TEIXEIRA *et al.*, 2017). Avaliou-se os parâmetros relacionados com a biota do solo, sendo eles: pH, condutividade elétrica (CE), carbono orgânico total (Corg), matéria orgânica (MO),

fósforo (P), nitrogênio (N), macronutrientes: sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), micronutrientes: ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn) e manganês (Mn), e acidez potencial.

A determinação do pH foi realizada de forma potenciométrica através de um pHmetro, em que se utilizou uma mistura de 10g de solo com 25mL de água deionizada (proporção 1:2,5). O equipamento foi calibrado previamente com padrões de pH 4,0 e 7,0 e a solução, após ser agitada, ficou em descanso por 1 hora antes da medição.

A condutividade elétrica das amostras de solo foi obtida por meio da mistura de 100g de solo com 100 mL de água destilada (proporção 1:1). A mistura foi agitada e deixada em repouso por 24h, filtrada em papel de filtro comum e o filtrado lido por condutivímetro, em mS cm^{-1} a 26°C.

A quantidade de carbono orgânico total (Corg) foi determinada a partir de uma reação de oxirredução, em que se utilizou 0,5 g de solo com 10 mL de dicromato de potássio, e essa mistura foi submetida a aquecimento em chapa aquecedora. Adicionou-se ainda água destilada, ácido fosfórico e indicador (difelanina) e realizou-se uma titulação com solução de sulfato ferroso amoniacal 0,05 mol.L⁻¹. O volume gasto para cada amostra foi anotado e o cálculo para determinação do Corg foi realizado através da seguinte equação:

$$\text{Corg (g/kg)} = (40 - \text{volume gasto}) \times f \times 0,6$$

$$f = 40/\text{volume do sulfato ferroso gasto na prova em branco.}$$

Também foi possível determinar a quantidade de matéria orgânica (MO) a partir dos resultados de Corg, para isso utilizamos a seguinte equação:

$$\text{MO (g/kg)} = \text{C (g/kg)} \times 1,724$$

O teor de fósforo no solo foi determinado baseado no princípio da dissolução e/ou do deslocamento de P presente em minerais e superfícies sólidas do solo para a solução. Para isso utilizou-se 5g de solo para 50mL de solução Mehlich-1 (proporção 1:10), mistura que foi agitada, submetida a filtragem rápida (filtro faixa preta) e preparada para leitura no espectrofotômetro-UV-Vis seguindo metodologia específica. A partir da leitura das amostras foram calculados a quantidade de fósforo e expressos em mg/kg, a partir da seguinte fórmula:

$$\text{P (mg/kg)} = \text{L} \times \text{Fp} \times 10$$

L = leitura da amostra.

Fp = coeficiente angular da reta obtido a partir dos valores de leitura das curvas preparadas para análise.

A análise de nitrogênio total nas amostras do solo foi determinada através da destilação a vapor. Para isso foram colocados em tubos 1 g de solo (TFSA) e 2,5mL de solução digestora e levados ao bloco de digestão à 150°C por uma hora. Após isso realizou-se uma preparação das amostras seguindo metodologia adequada, destilação e posterior titulação. O volume obtido foi calculado sob fórmula e expresso em g/kg.

Para a determinação dos teores de macronutrientes no solo (Na, K, Ca e Mg), utilizou-se 7g de solo para 70mL de acetato de amônio 1N pH 7 (proporção 1:10), em que essa mistura foi agitada, submetida a uma filtração lenta e após isso, cálcio e magnésio solúveis foram determinados pelo espectrômetro de absorção atômica (EAA), e sódio e potássio pelo fotômetro de chama. Os cálculos foram feitos seguindo a metodologia para cada cátion e os valores expressos em cmol_c. Kg. Já para os teores de micronutrientes no solo (Fe, Cu, Zn e Mn) utilizou-se uma mistura de 12g de solo com 60 mL de solução extratora de Mehlich-1 (proporção 1:5), que foi agitada, submetida a uma filtração lenta e esse filtrado lido no espectrômetro de absorção atômica (EAA). Os valores de ferro, cobre, zinco e manganês foram obtidos a partir do cálculo da leitura do extrato (em mg.L⁻¹) multiplicado por cinco, sendo esses valores também expressos em cmol_c. Kg.

Por fim, a acidez potencial foi obtida a partir de uma titulação com NaOH 0,0606 N. A partir da mistura de 3 g de solo com 45 mL de acetato de cálcio 1N (proporção 1:15), que foi agitada, submetida a filtração rápida, pipetado 25mL do extrato, adicionado fenolftaleína 3% como indicador e a titulação foi realizada até o desenvolvimento de uma coloração rósea. O cálculo foi realizado seguindo metodologia e os valores foram expressos em cmol_c /kg.

4.5 Análise dos dados

Para avaliar a dinâmica dos grupos funcionais do presente trabalho utilizou-se uma das medidas de diversidade que considera a abundância relativa e que é determinada pelo índice de Shannon (H') (MARTINS; SANTOS, 1999). A abundância foi obtida a partir dos dados das contagens de colônias realizadas, e então o índice de diversidade dos grupos funcionais bacterianos foi calculado. Para tanto, utilizou-se a equação do índice de Shannon-Weaver, apresentada a seguir:

$$H = - \sum p_i (\ln p_i)$$

Nessa equação temos que “ p_i ” representa a abundância de cada grupo funcional no somatório de todas as contagens (MAGURRAN, 1988; GOMEZ *et al.*, 2006).

Além disso, os dados quantitativos das análises químicas das amostras de solo, assim como as contagens de colônias e os índices de Shannon obtidos foram submetidos a uma análise ANOVA e comparações de médias pelo teste de correlação de Pearson, considerando os diferentes usos do solo envolvidos no estudo. Para classificação das correlações utilizou-se a interpretação estabelecida por Callegari-Jacques (2013) (Tabela 2).

Tabela 2 – Interpretação de índices de correlação de Pearson

Valor de r (+ ou -)	Interpretação
0,00 a 0,19	Correlação muito fraca
0,20 a 0,39	Correlação fraca
0,40 a 0,69	Correlação moderada
0,70 a 0,89	Correlação forte
0,90 a 1,00	Correlação muito forte

Fonte: Callegari-Jacques, 2003.

Por fim, foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) de forma a identificar a relação entre as características extraídas dos dados de abundância dos grupos funcionais e das análises químicas dos diferentes usos do solo.

5 RESULTADOS

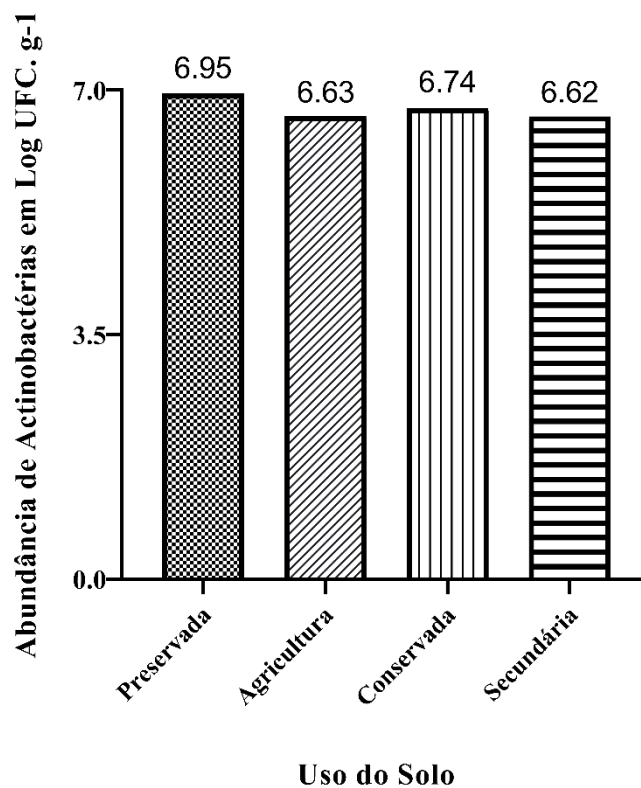
5.1 Abundância dos grupos funcionais nos diferentes usos de solo

5.1.1 Actinobactérias

As abundâncias das actinobactérias nos diferentes usos do solo apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as áreas amostradas, em que é possível destacar a área C170 com maior valor de abundância, $7,28 \text{ Log UFC. g}^{-1}$, e a área S69 com menor valor ($6,03 \text{ Log UFC. g}^{-1}$).

As abundâncias nas áreas amostradas no solo preservado se diferenciaram das demais áreas com valor médio de $6,95 \text{ Log UFC. g}^{-1}$ (Figura 4). Além disso, esse grupo funcional se destaca dos demais estudados nesse trabalho por apresentar maior valor médio de abundância registrada em todos os usos de solo.

Figura 4 – Valores médios das abundâncias de actinobactérias nos diferentes usos de solo estudados



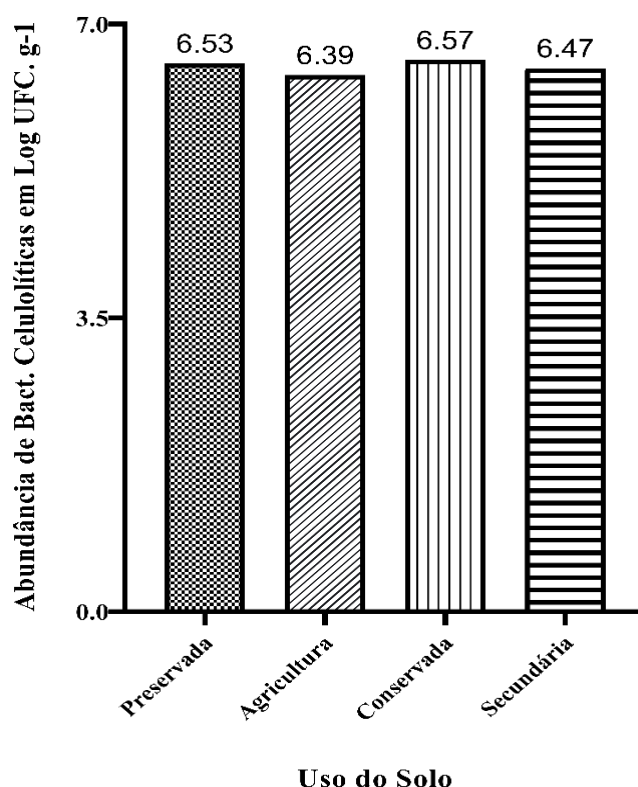
Fonte: Dados da pesquisa.

5.1.2 Abundância de Bactérias Celulolíticas

Os resultados para abundância dessas bactérias não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), ou seja, não apresentam diferença estatística entre as áreas estudadas. A área C160 apresentou maior valor de abundância ($7,39 \text{ Log UFC. g}^{-1}$), enquanto a área A68 apresentou menor valor ($5,43 \text{ Log UFC. g}^{-1}$).

Quanto ao uso de solo (Figura 5), nas áreas amostradas no uso de solo conservado houve uma abundância com maior valor médio de $6,57 \text{ Log UFC. g}^{-1}$, seguido das áreas com solo preservado, que registrou o segundo maior valor médio de abundância ($6,53 \text{ Log UFC. g}^{-1}$).

Figura 5 – Valores médios das abundâncias de bactérias celulolíticas nos diferentes usos de solo estudados



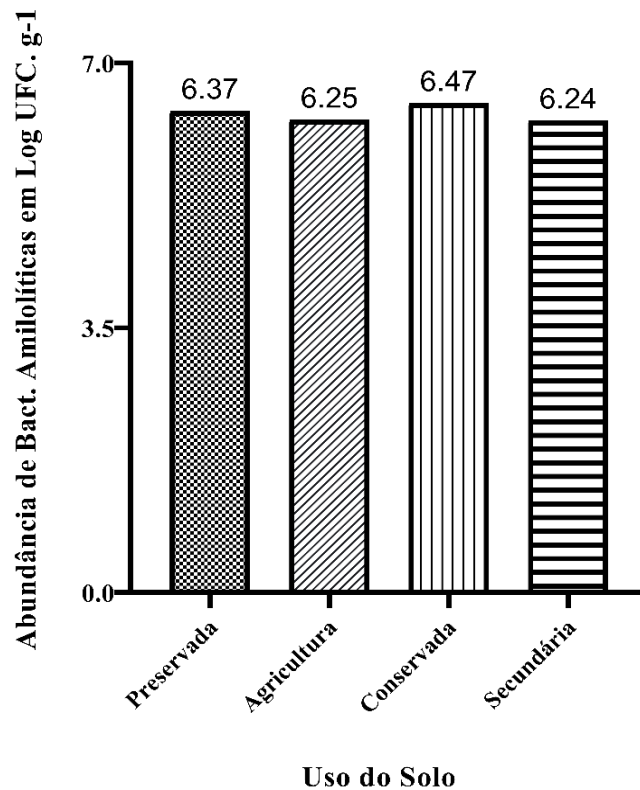
Fonte: Dados da pesquisa.

5.1.3 Abundância de Bactérias Amilolíticas

A maior abundância para esse grupo funcional bacteriano ocorreu na área C170 com $7,14 \text{ Log UFC. g}^{-1}$, e o menor valor na área A68 com $4,70 \text{ Log UFC. g}^{-1}$. Embora a diferença entre as abundâncias nas áreas amostradas nos diferentes usos de solo não tenha sido

estatisticamente significativa ($p > 0,05$), as áreas conservadas apresentaram maior valor médio (6,47 Log UFC. g^{-1}) para a abundância de bactérias amilolíticas (Figura 6).

Figura 6 – Valores médios das abundâncias de bactérias amilolíticas nos diferentes usos de solo estudados



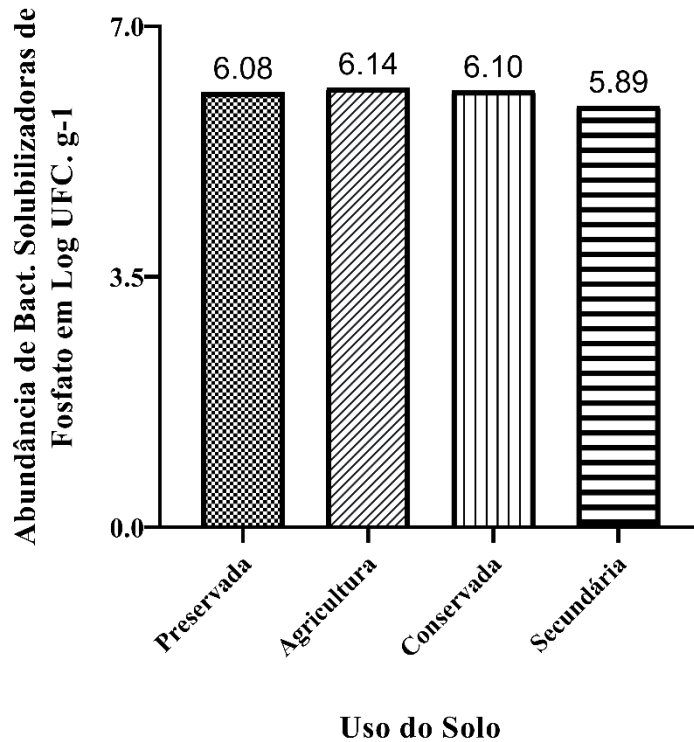
Fonte: Dados da pesquisa.

5.1.4 Abundância de Bactérias Solubilizadoras de Fosfato

Mesmo a diferença entre as áreas avaliadas não tendo se apresentado estatisticamente significativa ($p > 0,05$), os resultados de abundância para as bactérias solubilizadoras de fosfato se destacam por apresentar menor valor médio de abundância registrada no uso de solo secundário, 5,89 Log UFC. g^{-1} (Figura 7), sendo esse valor também o menor valor médio entre todos os grupos funcionais estudados nesse trabalho.

O maior valor de abundância para esse grupo bacteriano foi na área S168 e o menor na área S69, respectivamente 7,14 Log UFC. g^{-1} e 4,30 Log UFC. g^{-1} .

Figura 7 – Valores médios das abundâncias de bactérias solubilizadoras de fosfato nos diferentes usos de solo estudados



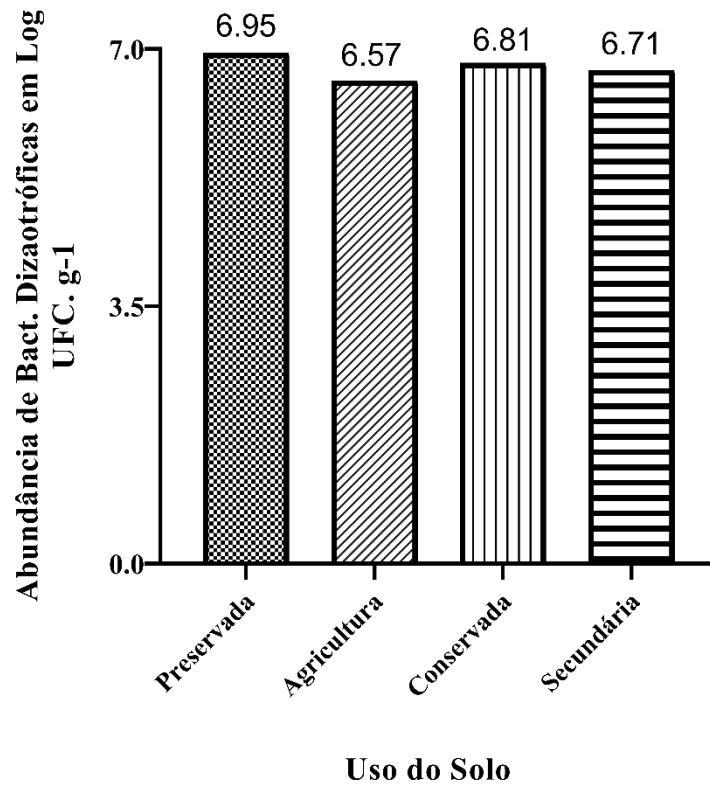
Fonte: Dados da pesquisa.

5.1.5 Abundância de Bactérias Diazotróficas de Vida Livre

Dentre os grupos funcionais estudados, a análise de variância mostrou que essas bactérias apresentaram maior variação entre as áreas amostrais, com o menor valor de abundância 5,72 Log UFC. g⁻¹ na área S69 e o maior valor de abundância 7,55 Log UFC. g⁻¹ na área S52.

Em relação aos valores médios de abundância das bactérias diazotróficas de vida livre entre os usos de solo (Figura 8), o maior valor médio registrado foi em áreas com uso de solo preservado (6,95 Log UFC. g⁻¹) e o menor valor médio em uso de solo pela agricultura (6,57 Log UFC. g⁻¹), sendo essa variação estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Figura 8 – Valores médios das abundâncias de bactérias diazotróficas de vida livre nos diferentes usos de solo estudados

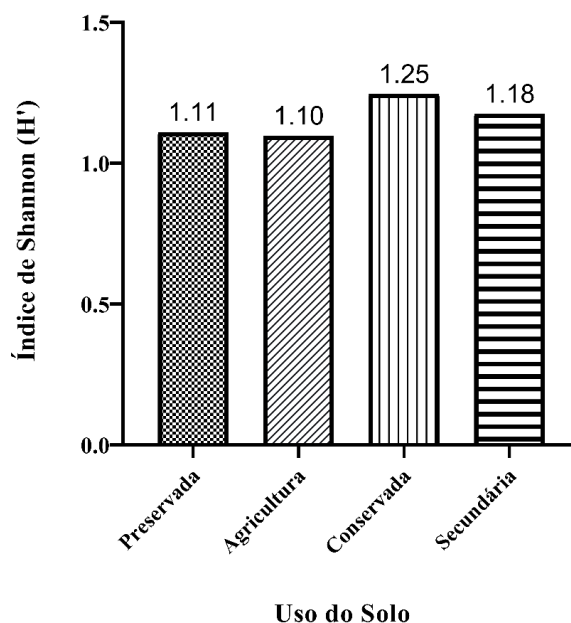


Fonte: Dados da pesquisa.

5.2 Equabilidade dos grupos funcionais nos diferentes usos de solo

Os índices de Shannon (H') obtidos das abundâncias relativas das diferentes áreas avaliadas dos usos de solo variaram de 0,71 na área S76 e 1,60 na área S168. Pela análise de variância os índices de Shannon não apresentaram diferença significativa dentre os diferentes usos do solo ($p = 0,546$), mas destacamos que a uniformidade (equabilidade) dos dados foi maior nas áreas de solo conservado (Figura 9).

Figura 9 – Valores de H' por uso de solo



Fonte: Dados da pesquisa.

5.3 Análise estatística dos grupos funcionais em relação aos diferentes usos de solo

Com a ANOVA foi possível verificar as diferenças entre as abundâncias dos grupos funcionais em relação aos usos de solo e determinar, por meio de Tukey (5% de significância) em qual grupo essas diferenças se apresentavam (Tabela 3), de forma que se observou que para as actinobactérias o solo preservado difere estatisticamente dos demais usos de solo, por possuir maior valor médio de abundância. Além disso, é possível observar que para as bactérias celulolíticas, amilolíticas e solubilizadoras de fosfato não houve diferença significativa entre os usos de solo e que as bactérias diazotróficas de vida livre são as mais sensíveis a alterações do solo, pois apresentou a maior diferença entre as abundâncias nos diferentes usos.

Tabela 3 – Valor médio das abundâncias e equabilidade dos grupos funcionais

	Preservada	Agricultura	Conservada	Secundária
Actinobactérias	6,95 ^a	6,63 ^b	6,74 ^b	6,62 ^b
Bact. Celulolíticas	6,53 ^a	6,39 ^a	6,57 ^a	6,47 ^a
Bact. Amilolíticas	6,37 ^a	6,25 ^a	6,47 ^a	6,24 ^a
Bact. Solubilizadoras	6,08 ^a	6,14 ^a	6,10 ^a	5,89 ^a
B. Diazotróficas	6,95 ^a	6,57 ^c	6,81 ^{ab}	6,71 ^{bc}
Índice de Shannon	1,1105*	1,0975*	1,2460*	1,1759*

Médias com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de significância).

* Não apresentou diferença significativa.

5.4 Características químicas do solo

Com base na análise de variância realizada com os dados das análises químicas do solo (Tabela 4), na maioria dos parâmetros avaliados a diferença foi significativa ($p < 0,05$), exceto nos valores de pH ($p = 0,151$). Nesse parâmetro os valores variaram de 4,84 na área A56 a 6,52 na área A89, ambas áreas amostradas no solo com uso agrícola. Na análise de condutividade do solo foi possível obter o maior registro na área C86, 2,32 mS/cm, e o menor registro foi de 0,12 mS/cm na área C83. Em relação a acidez potencial, que corresponde a capacidade do solo de realizar trocas catiônicas, o menor valor foi 0,1 cmolc /kg na área A155 e o maior 4 cmolc /kg na área PRE45.

Em relação a concentração máxima de carbono (Corg), os valores variaram entre 1,93 g/Kg na área A155 e 20,44 g/Kg na área PRE45. Para matéria orgânica (MO) a amplitude dos dados se deu também entre as duas áreas mencionadas, pois esses parâmetros são relacionados, assim, em relação a MO, a menor concentração foi 3,33 g/Kg na área A155 e a maior foi 35,24 g/Kg na área PRE45. Quanto as concentrações de fósforo (P), a área C61 apresentou menor concentração, 3,17 g/Kg e a área S76 apresentou maior concentração, 25,39 g/Kg. Ao avaliarmos a concentração de nitrogênio (N), temos que a menor concentração obtida foi no solo amostrado da área A155 com valor total de 0,80 g/ Kg e a maior concentração foi na área S168.

Na análise de macronutrientes, para sódio (Na) a concentração mínima foi 0,23 cmol/ Kg na área A180 e a máxima 0,47 cmol/ Kg na área S52. Já para potássio e cálcio as menores concentrações foram encontradas na área S69, sendo 0,21 cmol/ Kg e 0,70cmol/ Kg, respectivamente. No teor de potássio, a área C170 apresentou maior concentração, 0,78cmol/ Kg, já o maior teor de cálcio foi encontrado na área PRE98, sendo 7,50 cmol/ Kg. Quanto ao teor de magnésio, as concentrações variaram entre 0,39 cmol/ Kg e 3,39 cmol/ Kg, para as áreas S121 e C83, respectivamente.

Quanto aos teores de micronutrientes, a área C160 apresentou menor concentração de ferro, 4,23 cmol/ Kg e a área S69 a maior concentração, 35,78 cmol/ Kg. A área S69 se destacou também apresentando nos teores de micronutrientes as menores concentrações de zinco (Zn) e manganês (Mn), 0,41 cmol/ Kg e 2,67 cmol/ Kg, respectivamente, sendo esses valores os mínimos obtidos nas áreas para cada nutriente. Para o zinco a maior concentração foi 4,16 cmol/ Kg na área C160 e para o manganês foi 91,84 cmol/ Kg na área S76.

De acordo com a tabela 4, é possível observar as médias obtidas em cada análise química do solo e que, embora majoritariamente difiram entre si, pois em 72% dos parâmetros houve a separação em dois grupos, no pH as médias não diferiram estatisticamente entre si. Em contraste, as médias de carbono (Corg) formaram quatro grupos, evidenciando a diferença e influência da alteração do uso de solo nesse parâmetro. Dentre os resultados, destaca-se a área preservada, que apresentou maiores médias em oito dos 15 parâmetros químicos analisados, já a área de agricultura possuiu os menores valores em 60% dos parâmetros.

Tabela 4 – Médias dos parâmetros químicos do solo em relação aos diferentes usos

	Preservada	Agricultura	Conservada	Secundária
pH	5,67 ^a	5,72 ^a	5,66 ^a	5,87 ^a
CE (mS/cm)	1,17 ^a	0,53 ^b	1,14 ^a	0,33 ^b
Acidez Potencial (cmolc/kg)	1,38 ^a	0,34 ^b	0,53 ^b	0,38 ^b
Corg (g/Kg)	15,89 ^a	7,17 ^d	12,64 ^b	9,55 ^c
MO (g/Kg)	27,40 ^a	12,36 ^d	21,79 ^b	16,47 ^c
P (mg/Kg)	6,58 ^b	6,96 ^b	6,36 ^b	9,40 ^a
N (g/Kg)	16,51 ^a	6,42 ^c	11,49 ^b	9,55 ^b
Na (cmol/Kg)	0,32 ^b	0,28 ^c	0,33 ^b	0,41 ^a
K (cmol/Kg)	0,54 ^a	0,41 ^b	0,56 ^a	0,41 ^b
Ca (cmol/Kg)	5,38 ^a	2,66 ^b	4,42 ^a	2,75 ^b
Mg (cmol/Kg)	2,24 ^a	1,21 ^b	1,86 ^a	1,10 ^b
Fe (cmol/Kg)	11,86 ^c	12,44 ^{ab}	15,44 ^{ab}	16,04 ^a
Cu (cmol/Kg)	0,73 ^a	0,26 ^b	0,31 ^b	0,18 ^b
Zn (cmol/Kg)	1,88 ^{ab}	1,46 ^{bc}	2,15 ^a	1,14 ^c
Mn (cmol/Kg)	48,73 ^a	17,48 ^b	43,62 ^a	35,90 ^a

Médias com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de significância).

5.5 Correlação de dados dos grupos funcionais bacterianos e dos parâmetros químicos do solo

A análise de correlação com os dados de abundância dos grupos funcionais bacterianos e dos parâmetros químicos realizados com as amostras de solo revelaram o nível de influência entre essas variáveis. Na tabela 5 é possível ver os coeficientes de Pearson obtidos na análise e a significância dessa estatística. Embora nenhuma das correlações tenham sido classificadas em forte ou muito forte, a maior parte da análise apresentou-se significativa, ($p < 0,05$), nesses casos podemos destacar nitrogênio, potássio, cálcio e manganês que se correlacionaram positivamente com todos os grupos funcionais, seguido de pH, carbono e manganês, que se correlacionaram positivamente com quatro dos cinco grupos funcionais

analisados. Em relação à correlação negativa, podemos destacar o ferro, que se correlacionou com todos os grupos bacterianos, exceto com as bactérias amilolíticas.

As actinobactérias apresentaram correlação positiva com todos os parâmetros, exceto fósforo e ferro, e a maior correlação observada foi com as bactérias diazotróficas ($r=0,63$), seguido da correlação com as bactérias amilolíticas ($r=0,45$). Destacamos também as maiores correlações desse grupo bacteriano com os teores de N, Ca e Mg, que apresentaram coeficiente de Pearson igual a 0,48, 0,40 e 0,42, respectivamente. Todas as correlações supracitadas são consideradas moderadas e as demais correlações com as actinobactérias foram classificadas em fracas e muito fracas.

Para as bactérias celulolíticas, as correlações foram positivas em todos os parâmetros, exceto acidez potencial e ferro. Mais da metade das correlações apresentadas foram fracas, mas destacamos a correlação desse grupo bacteriano com as bactérias solubilizadoras de fosfato, que foi classificada como moderada ($r=0,47$). Essas bactérias também se correlacionaram de forma moderada com o pH ($r=0,41$), com K ($r=0,48$) e com Ca ($r=0,46$). As demais correlações apresentadas foram fracas ou muito fracas.

Em relação as amilolíticas, todas as correlações apresentaram-se positivas, exceto com acidez potencial, fósforo e ferro, mas importante salientar que essas correlações não foram significativas. Constatou-se que as abundâncias dessas bactérias se correlacionaram de forma moderada apenas com as actinobactérias ($r=0,45$). Vale destacar também que a maioria das correlações determinadas para esse grupo não foram significativas e daquelas que foram, foi o único grupo funcional a não se correlacionar negativamente com nenhum outro parâmetro.

Quanto as bactérias solubilizadoras de fosfato, a única correlação negativa apresentada foi com ferro. Além disso, é possível notar que suas abundâncias apresentaram correlações classificadas como moderada apenas com as bactérias celulolíticas ($r=0,47$) e com teores de K ($r=0,41$). Vale destacar nessa análise que a correlação, embora não tenha sido significativa ($p=0,058$) com teores de fosfato (P), quando foi feita utilizando os valores absolutos do número de células obtivemos uma diferença significativa e a correlação de Pearson foi igual a 0,236. Essa divergência pode ter ocorrido devido a diminuição da magnitude provocada pela logaritimização da variável abundância.

As bactérias diazotróficas de vida livre também tiveram correlação positiva com todos os parâmetros, exceto com ferro. Para esse grupo funcional, as correlações apresentaram-

se como moderadas com actinobactérias ($r=0,63$), carbono e matéria orgânica ($r=0,44$), cálcio ($r=0,43$) e magnésio ($r=0,44$). As demais correlações foram fracas ou muito fracas.

Tabela 5 – Coeficientes gerais de correlação de Pearson entre os grupos funcionais bacterianos e parâmetros químicos analisados

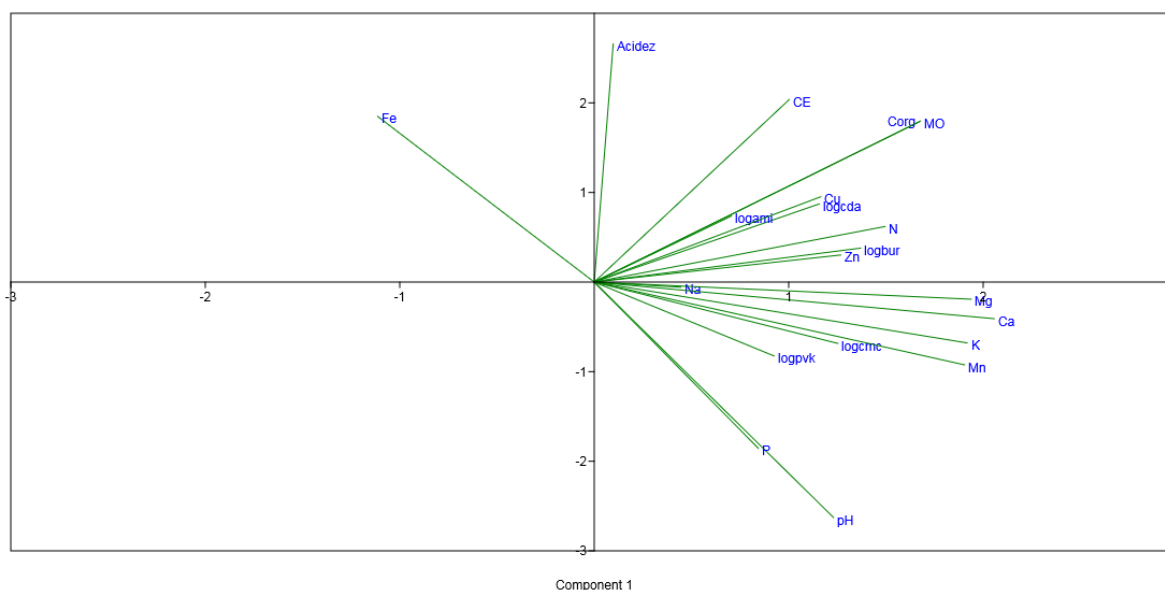
Parâmetros	Actinobactérias	Bact. Celulolíticas	Bact. Amilolíticas	Bact. Solubilizadoras	Bact. Diazotróficas
Actinobactérias	-	0,35	0,45	0,23	0,63
Bact. Celulolíticas	0,35	-	0,35	0,47	0,33
Bact. Amilolíticas	0,45	0,35	-	0,07*	0,35
Bact. Solubilizadoras	0,23	0,47	0,07*	-	0,32
B. Diazotróficas	0,63	0,33	0,35	0,32	-
pH	0,22	0,41	0,09*	0,36	0,34
CE	0,18	0,12*	0,13*	0,09*	0,27
Acidez Potencial	0,12*	-0,23	-0,05*	0,04*	0,09*
Corg	0,39	0,37	0,28	0,14*	0,44
MO	0,39	0,37	0,28	0,14*	0,44
P	-0,12*	0,18	-0,11*	0,15*	0,18
N	0,48	0,37	0,32	0,31	0,38
Na	0,09*	0,31	0,12*	0,01*	0,24
K	0,33	0,48	0,16	0,41	0,51
Ca	0,40	0,46	0,19	0,32	0,43
Mg	0,42	0,34	0,15*	0,30	0,44
Fe	-0,19	-0,29	-0,05*	-0,34	-0,23
Cu	0,30	0,20	0,14*	0,03*	0,24
Zn	0,12*	0,20	0,03*	0,26	0,37
Mn	0,27	0,50	0,18	0,25	0,39

* Correlação não significativa ($p > 0,05$)

5.6 Análise de componentes principais com base nas abundâncias dos grupos funcionais e nos parâmetros químicos do solo

Utilizando-se da análise de componentes principais (PCA), foi possível identificar a relação entre as características analisadas tanto dos grupos funcionais (abundância) quanto as do solo. Essa análise entre as variáveis gerou um KMO igual a 0,695, considerado razoável (FÁVERO, 2009), sugerindo adequação dos dados à análise fatorial, além disso, o teste de esfericidade de Bartlett apresentou uma matriz com sig = 0,000, portanto não é uma matriz de identidade, evidenciando a correlação entre as variáveis. Os resultados de PCA mostraram que cinco componentes explicam 72,6% da variância dos dados, sendo o primeiro componente responsável por 37,69% dos dados e englobando as variáveis de abundância de actinobactérias, bactérias celulolíticas, bactérias diazotróficas, pH, carbono, matéria orgânica, nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio, cobre, zinco e manganês.

Figura 10 – Análise de componentes principais com dados de abundância e parâmetros químicos



Na análise de componentes principais realizada com os dados de cada uso do solo, foi possível estabelecer quais variáveis de solo poderiam estar influenciando na abundância dos grupos microbianos, de forma que, na área Preservada, cinco componentes explicaram 92,75% da variação dos dados, destes 49,70% foi explicado pelo primeiro componente, que agrupa as variáveis pH, P, Na, K, Ca, Mg e log das bactérias celulolíticas. Na área de agricultura, seis componentes explicaram 89,54% da variação dos dados, destes 36,50% representado pelo

primeiro componente que explica 36,50% dos dados e inclui as variáveis de pH, Corg, MO, N, K, Ca, Mg, Mn e log das actinobactérias.

Já na análise de PCA realizada com os dados da área conservada, foi possível obter que cinco componentes explicam 89,15% da variação dos dados, destes 39,42% são explicados pelo primeiro componente, que agrupa as variáveis Corg, MO, P, K, Ca e Mn. Por fim, na análise com os dados da área secundária, também cinco componentes explicaram 86,87% da variação dos dados, sendo que destes 46,65% foram explicados pelo primeiro componente, representado pelas variáveis pH, Corg, MO, P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Mn e log das bactérias diazotróficas.

6 DISCUSSÃO

6.1 Abundância dos grupos funcionais bacterianos cultiváveis

As comunidades bacterianas são fortemente influenciadas através da diversidade da comunidade vegetal devido a fontes de carbono da serrapilheira e pela influência das propriedades físico-químicas do solo (PAPATHEODOROU *et al.*, 2008; BARDGETT; SHINE, 1999). Dessa forma, é importante considerar a estrutura vegetacional das áreas que foram amostrados os grupos funcionais, pois essa estrutura afeta a composição do solo podendo gerar alterações microclimáticas, acúmulo e produção de matéria orgânica e, principalmente a produção dos exsudatos pelas raízes das plantas, que têm influência na quantidade e atividade de comunidades microbianas (PRESCOTT; GRAYSTON, 2013; SOUZA *et al.*, 2010; GRIFFITHS *et al.*, 2011; KURAMAE *et al.*, 2012; RAAIJMAKERS *et al.*, 2009).

Grupos bacterianos são reconhecidamente dependentes das propriedades do solo e são ligados as comunidades vegetais desse ecossistema (LANGE *et al.*, 2014). Entre os usos de solo estudados, as áreas preservada e conservada encontram-se em estágio de sucessão avançado, apresentando semelhanças entre as propriedades edáficas e da estrutura vegetacional, o que pode refletir as abundâncias das actinobactérias, bactérias celulolíticas, bactérias amilolíticas e bactérias diazotróficas de vida livre terem sido maiores nessas áreas.

As actinobactérias apresentaram maior abundância na área preservada, o que indica a estreita relação que esse grupo possui com as propriedades edáficas e das comunidades vegetais. Nas áreas preservadas havia presença de vegetação nativa com sucessão avançada, contribuindo com uma maior deposição de serrapilheira e, assim, um aumento na atividade microbiana de grupos produtores de enzimas extracelulares, como as actinobactérias, que hidrolisam macromoléculas complexas, disponibilizando energia e nutrientes necessários para processos ecológicos no solo e interações metabólicas com outros microrganismos (SILVA *et al.*, 2019; PALANIYANDI, 2014; PANDE *et al.*, 2014). Além disso, tem-se que a capacidade metabólica das actinobactérias é um fator que possibilita o crescimento e sobrevivência desse grupo nos mais diferentes ambientes (GONZÁLEZ *et al.*, 2005), o que explica a abundância não ter sido tão alterada entre os usos do solo, com uma variação não tão expressiva nos valores de abundância, embora, estatisticamente, a área preservada tenha diferido das demais.

A maior abundância das bactérias celulolíticas foi encontrada em área conservada. Essa área, caracterizada por vegetação nativa com estágio sucessional ecológico avançado, tem

grande deposição de serrapilheira. No processo de decomposição desse material, a celulose representa um dos principais compostos e que é hidrolisado pela ação de enzimas extracelulares produzidas por bactérias celulolíticas (RODRIGUES *et al.*, 2011; MAKI *et al.*, 2009). Além disso, nessa área há maior influência de raízes, ambiente reconhecidamente marcado pela liberação de exsudatos radiculares que determinam interações e atividade de microrganismos e, assim, com maior influência na dinâmica da comunidade microbiana do solo (BAIS *et al.*, 2006).

Esses fatores também podem explicar a maior abundância de bactérias amilolíticas nas áreas conservadas, pois têm-se que o amido representa uma das principais fontes de carbono do solo (FLORENCIO *et al.*, 2012), e, segundo Chávez e colaboradores (2012), quanto maior a presença de raízes, maior será a exsudação de compostos orgânicos, que representam fonte de carbono e energia a população microbiana, favorecendo aumento de sua abundância e diversidade. Considerando os estudos supracitados, isso também explica a menor abundância das bactérias amilolíticas na área agrícola, pois apesar da plantação de monoculturas de milho e feijão estarem presentes, a cobertura vegetal desse solo não é tão efetiva para que se considere a liberação de exsudatos das raízes que estimulariam o crescimento microbiano, além disso, consideramos que quanto menor a diversidade de plantas, menor a presença e atividade bacteriana no solo (LANGE *et al.*, 2015).

Em contrapartida aos resultados anteriores, em que as maiores abundâncias foram detectadas em áreas preservada e conservada, temos que a abundância de bactérias solubilizadoras foi maior em área agrícola. Nos solos ácidos, como aqueles amostrado na área agrícola desse estudo, microrganismos como as bactérias solubilizadoras de fosfato são essenciais para a solubilização do fósforo inorgânico (CHAGAS JÚNIOR *et al.*, 2010), o que pode justificar a maior presença desse grupo funcional nos solos dessas áreas. Resultado semelhante foi encontrado por Wang e colaboradores (2016), os quais estudaram a solubilização de fosfato de cepas em áreas agrícolas, e determinaram que nessas áreas foi identificado maior comunidade dessas bactérias. Além disso, esse grupo bacteriano é reconhecido por sua resistência ao estresse e capacidade de solubilização de fosfato em diferentes pHs (LI *et al.*, 2021), levando em consideração esses e outros fatores como matéria orgânica, exsudação de raízes e quantidade de fósforo identificado nas análises de solo, explica-se os valores de abundância não terem diferido estatisticamente para esse grupo nas diferentes áreas amostradas.

Já para as bactérias diazotróficas de vida livre, temos que as abundâncias desse grupo diferiram estatisticamente entre si, de forma que é possível inferir que esse grupo bacteriano foi o mais sensível às alterações no solo. Mudanças no solo, como alterações na estrutura vegetacional, podem gerar modificações físicas e químicas que são capazes de afetar as bactérias diazotróficas (GRAHAM *et al.*, 2014; MIRZA *et al.*, 2014) e, conseqüentemente os processos ecológicos que elas participam nesse ecossistema. A maior abundância desse grupo foi obtida em área preservada, onde há mais presença de comunidades vegetais, que demandam a fixação biológica desses microrganismos e o aporte de nitrogênio proporcionadas por elas em solos (FRACETTO *et al.*, 2019), o que também explica o maior teor de nitrogênio obtido nessa área.

6.2 Parâmetros químicos dos diferentes usos do solo

Os maiores valores dos parâmetros químicos analisados foram registrados na área preservada. Nesses locais, destacamos o maior teor de carbono, matéria orgânica e nitrogênio. Levando em consideração que a atividade bacteriana é aumentada em locais com maior concentração de carbono e nitrogênio (KORANDA *et al.*, 2013), o maior teor desses nutrientes pode ter relação com as maiores abundâncias dos grupos funcionais em áreas preservadas e conservadas.

Além disso, observa-se que, embora seja considerado que em áreas agrícolas os parâmetros químicos geralmente apresentam-se maiores do que em áreas preservadas (SANTOS *et al.*, 2008; TRAVASSOS; SOUZA, 2011), os dados obtidos não refletem isso. É provável que tal resultado possa ser relacionado com a atividade agrícola realizada nos pontos amostrados ser considerada de sequeiro. A agricultura de sequeiro é considerada uma agricultura de subsistência e apresenta baixo nível tecnológico com pouco investimento tanto em aplicação de técnicas de manejo quanto no uso de insumos agrícolas (ARAGÃO, 1981). Ademais, a retirada da cobertura vegetal comumente realizada na região para o plantio das culturas agrícolas, ocasiona a modificação das propriedades químicas e físicas do solo (CARVALHO FILHO *et al.*, 2009), fato que também explica os menores valores dos parâmetros químicos encontrados em áreas agrícolas.

No presente trabalho o pH em todas as áreas apresentou-se ácido, variando de 5,67 na área preservada a 5,87 na área secundária. O solo do semiárido, região da qual as amostras de solo foram coletadas, apresenta pH predominantemente alcalino, portanto, esse pH ácido

pode ser atribuído a processos pedogenéticos (MACEDO *et al.*, 2021) e é considerado um fator que tem influência na abundância relativa de grupos microbianos em solo (ROUSK *et al.*, 2010). Embora não tenha sido possível estabelecer, estatisticamente, uma diferença significativa entre as áreas estudadas, Souza e colaboradores (2010) descrevem que em regiões rizosféricas, devido ação bioquímica das raízes, o pH é alterado, dessa forma é possível explicar os diferentes pH obtidos, devido a alteração da vegetação nos solos estudados.

Ainda é possível observar um gradiente decrescente nos parâmetros de carbono, matéria orgânica e nitrogênio, da área preservada, conservada, secundária à agricultura. Áreas de floresta nativa são desmatadas através de corte e queima para serem convertidos em campo para a atividade agrícola, dessa forma há perdas substanciais da matéria orgânica do solo, com consequente perda de nutrientes (MENDES *et al.*, 2015; JASPER, 2007; CERTINI *et al.*, 2005).

6.3 Equabilidade dos grupos funcionais de diferentes usos do solo

A diversidade funcional pode ser considerada como a variação das respostas bióticas frente às mudanças nos ecossistemas (STEELE *et al.*, 1997), ou seja, a diversidade das atividades microbianas no solo, suas atuações nos processos biológicos no ecossistema (TORSVIK; ØVREÅS, 2002; KENNEDY, 1999). Essa diversidade é crucial para entender a manutenção dos processos especializados do solo em ecossistemas terrestres (TRIVEDI *et al.*, 2019).

Foi observada uma maior diversidade funcional na área conservada ($H' = 1,25$) e a menor em área agrícola ($H' = 1,10$). Resultados semelhantes foram encontrados por Lauber e colaboradores (2013), que ao estudar a variabilidade das comunidades microbianas em diferentes usos da terra, encontraram uma maior diversidade bacteriana em solos sucessionais do que em solos agrícolas, fato que atribuíram ao teor de carbono orgânico disponível. Além disso, é importante destacar que a área preservada não apresentou maior diversidade funcional provavelmente pelo fato de que à medida que a vegetação se estabelece, atingindo níveis sucessionais avançados, há uma estabilidade na atividade metabólica dos microrganismos, mantendo o equilíbrio dos processos ecológicos (TORSVIK; ØVREÅS, 2002).

Embora os índices de equabilidade (diversidade) encontrados tenham sido relativamente baixos, em comparações a outros estudos que utilizam o índice da Shannon (OLIVEIRA *et al.*, 2009; ZAK *et al.*, 1994), e não tenham diferido entre si nos diferentes usos do solo, podemos considerar uma conexão entre as variações nos usos do solo e as respostas da diversidade

funcional, pois mesmo que haja perdas na diversidade devido às mudanças ambientais, ainda podemos considerar a resistência, resiliência e redundância funcional das funções microbianas (ALLISON; MARTINY, 2008; SINGH *et al.*, 2014).

Essa redundância funcional é considerada uma forma da biodiversidade alcançar uma estabilidade nos processos do ecossistema e é definida como uma sobreposição nas capacidades metabólicas de diferentes organismos (MENDES *et al.*, 2015; ALLISON; MARTINY, 2008), ou melhor, a semelhança entre organismos em termos funcionais. Dessa forma, consideramos que a diversidade funcional nesse trabalho não ter apresentado diferença significativa entre os usos de solo é explicada pelas características funcionais das comunidades bacterianas necessárias para executar e manter as funções ecológicas no solo, como a decomposição, solubilização e fixação de nutrientes (MARINARI *et al.*, 2013; LAURETO, CIANCIARUSO; SAMIA, 2015) e, assim, não é influenciada pela alteração no uso.

6.4 Correlação e análise de componentes principais entre grupos funcionais e parâmetros químicos do solo

As comunidades microbianas estão relacionadas com as propriedades edáficas (MENDES *et al.*, 2015; FICHTNER, *et al.*, 2014; PUPIN; NAHAS, 2014, HEROLD *et al.*, 2014), de forma que a adição ou perda da matéria orgânica pode alterar a composição e funcionalidade dos microrganismos nesse ecossistema. Além disso, essas comunidades não estão isoladas, podendo influenciar a coexistência uma das outras no solo (SILVA *et al.*, 2019).

Todos os grupos funcionais estudados correlacionaram positivamente entre si, evidenciando a interação e possível facilitação dos microrganismos no solo, em que o produto da degradação de substratos por um grupo microbiano pode ter favorecido o metabolismo do outro (KOUZUMA *et al.*, 2015). Para explicar essa correlação também podemos considerar o conceito de redundância funcional, anteriormente discutido, em que embora haja uma diferença na composição ou diversidade de um táxon bacteriano no ecossistema, as funções são mantidas devido a sobreposição funcional dos microrganismos no solo.

O pH teve correlação positiva com todos os grupos funcionais, provavelmente devido a influência desse pH no crescimento e permanência desses grupos microbianos em solo, e, principalmente, devido a faixa de pH considerada ideal para crescimento das bactérias do solo (ROUSK *et al.*, 2010; AKOND *et al.*, 2016).

Importante destacar que o teor de ferro apresentou correlação negativa com todos os grupos funcionais. O ferro é um micronutriente presente no solo e é considerado essencial em diversos processos metabólicos de organismos presentes nesse ecossistema, mas concentrações altas desse metal podem ser tóxicas, afetando o crescimento microbiano (JIANG *et al.*, 2009; LAMERS *et al.*, 2012). Em estudo sobre íon de ferro sobre uma bactéria, Kalantari e Ghaffari (2008) concluíram que o crescimento bacteriano foi inibido na presença desse metal. Ou seja, de acordo com os estudos supracitados e os resultados de correlação de Pearson obtidos, podemos inferir que teores de Fe no solo podem interferir negativamente na abundância e, conseqüentemente, na diversidade funcional dos grupos bacterianos no solo.

A partir da análise de componentes principais (PCA) é possível perceber que variáveis como o pH e principalmente os teores de Corg, P e N explicaram boa parte da variação dos dados, o que sugere a importância e influência dos grupos funcionais no solo e o quanto os parâmetros químicos dele pode influenciar a diversidade desses grupos. Herold e colaboradores (2014) constataram que a biomassa, a composição e a atividade microbiana foram influenciadas pelas propriedades do solo. No mesmo estudo os autores afirmaram que a diversidade microbiana estava relacionada principalmente às concentrações de nitrogênio no solo. Também em relação ao carbono e nitrogênio, Koranda e colaboradores (2013) avaliaram que a atividade bacteriana foi aumentada com a adição de nutrientes (C e N) no solo.

Além disso, em seu trabalho sobre comunidades bacterianas em um gradiente de vegetação, Araújo e colaboradores (2017) também demonstraram que fatores ambientais e a vegetação explicaram boa parte da variação dos dados, ou seja, que as diferentes plantas e exsudatos radiculares favoreciam diferentes recursos e, assim, havia a seleção de comunidades bacterianas mais atuantes ao longo do gradiente.

A PCA foi importante para evidenciar a influência dos parâmetros químicos do solo na variação dos dados obtidos no presente estudo. De maneira geral, o pH, carbono orgânico, fósforo, nitrogênio, macronutrientes como sódio, potássio, cálcio e magnésio e ainda os micronutrientes como o cobre, zinco e manganês foram identificados no primeiro componente da análise realizada para cada área. Isso evidencia que, mesmo nesse estudo as diversidades funcionais não terem diferido significativamente, as propriedades edáficas são responsáveis pela manutenção e estabilidade das comunidades bacterianas, fato explicado por Lauber e colaboradores (2008), que em seu estudo em diferentes usos da terra, concluíram que a comunidade microbiana foi modificada por alterações no pH e na disponibilidade de nutrientes.

7 CONCLUSÃO

No presente estudo foi possível identificar que as abundâncias dos grupos funcionais amostrados nos diferentes usos de solo, de forma geral, não apresentaram diferença significativa, mas destacamos o grupo de bactérias diazotróficas de vida livre, que demonstraram mais sensibilidade às alterações de solo. Ainda destacamos que, dentre os parâmetros químicos, o carbono apresentou mais diferença estatística entre os usos do solo, fator considerado importante na abundância e diversidade dos microrganismos, e mediado, principalmente, pela dinâmica da vegetação. Importante frisar também que os maiores valores dos parâmetros químicos foram encontrados em área preservada e os menores em área agrícola.

Em relação a diversidade funcional em termos de equabilidade, temos que os valores não diferiram significativamente entre as áreas, fato que pode ser atribuído a redundância funcional dos grupos no solo, que podem estar garantindo a manutenção dos processos ecológicos nesse ecossistema. Porém, essa maior diversidade ser encontrada em área conservada serve como importante fator para justificar a manutenção e conservação da vegetação desse local como atributo para manutenção da diversidade bacteriana e, conseqüentemente, dos ciclos biogeoquímicos e outras funções ecossistêmicas as quais as bactérias do solo estão ligadas.

A análise de componentes principais apresentou que as propriedades edáficas explicam boa parte da variação dos dados e, assim, da abundância e diversidade funcional dos grupos bacterianos estudados; confirmando mais uma vez a necessidade da manutenção da qualidade do solo e da comunidade vegetal que influencia a permanência desses grupos no funcionamento desse ecossistema.

REFERÊNCIAS

- AKOND, Muhammad, JAHAN, Mst Nursrat, SULTANA, Nigar., RAHMAN, Farhana. Effect of temperature, pH and NaCl on the isolates of actinomycetes from Straw and Compost Samples from Savar, Dhaka, Bangladesh. **American Journal of Microbiology and Immunology**, v. 1, n. 2, p. 10-15, 2016.
- ALLISON, S. D. *et al.* Soil enzymes: linking proteomics and ecological processes. In: Manual of Environmental Microbiology, Third Edition. **American Society of Microbiology**, 2007. p. 704-711.
- ALLISON, Steven D.; MARTINY, Jennifer BH. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 105, n. Supplement 1, p. 11512-11519, 2008.
- ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M. Bioindicadores para uma análise de risco ambiental. *Biotecnologia*, **Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 34, p. 11-19, 2005.
- ANDREOLA, Faustino; FERNANDES, S. A. P. A microbiota do solo na agricultura orgânica e no manejo das culturas. **Microbiota do solo e qualidade ambiental. Campinas: Instituto Agrônômico**, p. 21-37, 2007.
- ARAÚJO, A. S. F. de *et al.* Distinct bacterial communities across a gradient of vegetation from a preserved Brazilian Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 110, n. 4, p. 457-469, 2017.
- ARAGÃO, O. P. Diretrizes para estabilização de agricultura de sequeiro. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: ENCONTRO NACIONAL DE PESQUISA SOBRE CONSERVAÇÃO DO SOLO, 3., 1980, Recife. Anais... Recife: SBCS, 1981., 1981.
- ARIAS, M. Enriqueta *et al.* Soil health: A new challenge for microbiologists and chemists. **International Microbiology**, v. 8, n. 1, p. 13-21, 2005.
- ARIFUZZAMAN, M.; KHATUN, M. R.; RAHMAN, H. Isolation and screening of actinomycetes from Sundarbans soil for antibacterial activity. **African Journal of Biotechnology**, vol. 9, n. 29, p. 4615-4619, 2010.
- BAIS, H. P. *et al.* The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Review of Plant Biology**., v. 57, p. 233-266, 2006.
- BARDGETT, Richard D.; SHINE, Amanda. Linkages between plant litter diversity, soil microbial biomass and ecosystem function in temperate grasslands. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 31, n. 2, p. 317-321, 1999.
- BARÇA, E. A. *et al.* Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 1, p. 1-43, 2016.
- BHATTI, Asma Absar; HAQ, Shamsul; BHAT, Rouf Ahmad. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. **Microbial pathogenesis**, v. 111, p. 458-467, 2017.

BAUMANN, K. *et al.* Soil microbial diversity affects soil organic matter decomposition in a silty grassland soil. **Biogeochemistry**, v. 114, n. 1-3, p. 201-212, 2013.

BEHERA, B. C., SINGDEVSACHAN, S. K., MISHRA, R. R., DUTTA, S. K., THATOI, H. N. Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganism in mangrove—a review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 3, n. 2, p. 97-110, 2014.

BENDING, G. D.; TURNER, M. K.; JONES, J. E. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, n. 8, p. 1073-1082, 2002.

BERNARDES, C. M. *et al.* População microbiana como indicadora de interferência de diferentes manejos de solos de cerrado com cultivo de soja. **Bioscience Journal**, v. 22, n. 2, 2006.

BUYER, J. S. *et al.* Factors affecting soil microbial community structure in tomato cropping systems. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 831-841, 2010.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. Testes não-paramétricos. **Bioestatística: Princípios e Aplicações**. 1st Ed. São Paulo, Brasil: Artmed, p. 165-184, 2003.

CAPPUCCINO, J. G., SHERMAN, N. **A laboratory manual in general microbiology**. 4th edition. Benjamin Commius Publication Company, California, pp. 215-224, 1996.

CARVALHO FILHO, A.; CARVALHO, L. C. C.; CENTURION, J. F.; BEUTLER, A. N.; CORTEZ, J. W.; RIBON, A. A. Qualidade física de um latossolo vermelho férrico sob sistemas de uso e manejo. **Biosci. J., Uberlândia**, v. 25, n. 6, p. 43-51, 2009.

CERTINI, G. Effects of fire on properties of forest soils: a review. **Oecologia**, v. 143, n. 1, p. 1-10, 2005.

CHAGAS JÚNIOR, A. F.; OLIVEIRA, L. A.; OLIVEIRA, A. N.; WILLERDING, A. L.; Capacidade de solubilização de fosfatos e eficiência simbiótica de rizóbios isolados de solos da Amazônia. **Acta Scientiarum**. Maringá. vol. 32, n. 2, p. 359-366. 2010.

CHATER, K. F. *et al.* The complex extracellular biology of *Streptomyces*. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 34, n. 2, p. 171-198, 2010.

CHÁVEZ, Luis Fernando *et al.* Diversidade metabólica e atividade microbiana no solo em sistema de integração lavoura-pecuária sob intensidades de pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 1254-1261, 2011.

DELGADO-BAQUERIZO, M., MAESTRE, F. T., REICH, P. B., JEFFRIES, T. C., GAITAN, J. J., *et al.* Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. **Nature Communications**, v. 7, 10541, 2016.

DOBBELAERE, Sofie; VANDERLEYDEN, Jos; OKON, Yaacov. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical reviews in plant sciences**, v. 22, n. 2, p. 107-149, 2003.

- FERNÁNDEZ, Leticia Andrea *et al.* Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aisladas de suelos de la región sojera. **Ciencia del suelo**, v. 23, n. 1, p. 31-37, 2005.
- FICHTNER, A. *et al.* Effects of anthropogenic disturbances on soil microbial communities in oak forests persist for more than 100 years. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 70, p. 79-87, 2014.
- FIORETTO, A. *et al.* Decomposition of *Cistus incanus* leaf litter in a Mediterranean maquis ecosystem: mass loss, microbial enzyme activities and nutrient changes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 3, p. 311-321, 2001.
- FLIEßBACH, A.; MÄDER, Paul. Microbial biomass and size-density fractions differ between soils of organic and conventional agricultural systems. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, n. 6, p. 757-768, 2000.
- FLORENCIO, C.; COURI, S.; FARINAS, C. S. Correlation between agar plate screening and solid-state fermentation for the prediction of cellulase production by *Trichoderma strains*. **Enzyme research**, v. 2012, 2012.
- FRACETTO, Felipe José Cury *et al.* Free-living diazotrophs drive castor bean nitrogen input in tropical semiarid soils. **Ciência Rural**, v. 49, n. 12, 2019.
- FREY, S. D. *et al.* Chronic nitrogen enrichment affects the structure and function of the soil microbial community in temperate hardwood and pine forests. **Forest Ecology and Management**, v. 196, n. 1, p. 159-171, 2004.
- FRIEDEL, J. K.; GABEL, D.; STAHR, K.. Nitrogen pools and turnover in arable soils under different durations of organic farming: II: Source-and-sink function of the soil microbial biomass or competition with growing plants?. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 164, n. 4, p. 421-429, 2001.
- GOENADI, D. H., SUGIARTO, Y. Bioactivation of poorly soluble phosphate rocks with a phosphorus-solubilizing fungus. **Soil science society of America journal**, v. 64, n. 3, p. 927-932, 2000.
- GOMEZ, E., FERRERAS, L., TORESANI, S. Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. **Bioresource Technology**, v. 97, n.13, p. 1484-1489, 2006.
- GONZÁLEZ, I. *et al.* Actinomycetes isolated from lichens: Evaluation of their diversity and detection of biosynthetic gene sequences. **FEMS Microbiology Ecology**, v.54, p.401-415, 2005.
- GONZALEZ-QUIÑONES, V. *et al.* Soil microbial biomass—Interpretation and consideration for soil monitoring. **Soil Research**, v. 49, n. 4, p. 287-304, 2011.
- GRAHAM, E. B. *et al.* Do we need to understand microbial communities to predict ecosystem function? A comparison of statistical models of nitrogen cycling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 68, p. 279-282, 2014.
- GRÉGGIO, T. C.; NAHAS, E.; Atividade enzimática do solo sob dois fragmentos florestais. **Científica**. Jaboticabal. v.35, n.2, p.179 – 187. 2007.

- GRIFFITHS, R. I. *et al.* The bacterial biogeography of British soils. **Environmental Microbiology**, v. 13, n. 6, p. 1642-1654, 2011.
- GUPTA, R; MOHAPATRA, H; GOSWAMI, V.K.; CHAUHAN, B. Microbial α -Amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 11, p. 1-18, 2003.
- HAMDALI, Hanane *et al.* Screening for rock phosphate solubilizing Actinomycetes from Moroccan phosphate mines. **Applied soil ecology**, v. 38, n. 1, p. 12-19, 2008.
- HENDRICKS, C. W., DOYLE, J. D., HUGLEY, B. A new solid medium for enumerating cellulose-utilizing bacteria in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 5, p. 2016-2019, 1995.
- HEROLD, Nadine *et al.* Soil property and management effects on grassland microbial communities across a latitudinal gradient in Germany. **Applied Soil Ecology**, v. 73, p. 41-50, 2014.
- INSAM, H. Developments in soil microbiology since the mid 1960s. **Geoderma**, v. 100, n. 3, p. 389-402, 2001.
- JACOBSEN, C. S.; HJELMSØ, M. H. Agricultural soils, pesticides and microbial diversity. **Current opinion in biotechnology**, v. 27, p. 15-20, 2014.
- JASPER, D. A. Beneficial soil microorganisms of the jarrah forest and their recovery in bauxite mine restoration in Southwestern Australia. **Restoration Ecology**, v. 15, p. S74-S84, 2007.
- JEFFREY, L. S. H. *et al.* Isolation and screening of actinomycetes from Malaysian soil for their enzymatic and antimicrobial activities. **Journal of tropical agriculture and food science**, v. 35, n. 1, p. 159, 2007.
- JIANG, W.; MASHAYEKHI, H.; XING, B. Bacterial toxicity comparison between nano and micro scaled oxide particles. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 1619-1625, 2009.
- JOSHI, S. R.; SHARMA, G. D.; MISHRA, R. R. Microbial enzyme activities related to litter decomposition near a highway in a sub-tropical forest of north east India. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 25, n. 12, p. 1763-1770, 1993.
- KALANTARI, N.; GHAFFARI, S. Evaluation of Toxicity of Heavy Metals for Escherichia coli Growth. **Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering**, v. 5, p. 173-178, 2008.
- KANDELER, F.; KAMPICHLER, C; HORAK, O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. **Biology and Fertility of Soils**, 23(3), 299-306, 1996.
- KANNAN, N. **Laboratory manual in general microbiology**. Palani Paramount Publication, Palani, pp. 67-72, 1996.
- KENNEDY, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, n. 1, p. 65-76, 1999.

- KENNEDY, A. C., SMITH, K. L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant and soil**, v. 170, n. 1, p. 75-86, 1995.
- KORANDA, Marianne *et al.* Seasonal variation in functional properties of microbial communities in beech forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 60, p. 95-104, 2013.
- KORRA, Ashwani *et al.* Isolation, screening and characterization of cellulolytic bacteria from forest soil sample. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 3, n. 10, p. 679-685, 2014.
- KOUZUMA, Atsushi; KATO, Souichiro; WATANABE, Kazuya. Microbial interspecies interactions: recent findings in syntrophic consortia. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 477, 2015.
- KRAUSE, S., LE ROUX, X., NIKLAUS, P. A., VAN BODEGOM, P. M., LENNON, J. T., *et al.* Trait-based approaches for understanding microbial biodiversity and ecosystem functioning. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, 2014.
- KRISHNA, M. P.; VARGHESE, Rinoy; MOHAMED, A. A. Depth wise variation of microbial load in the soils of midland region of Kerala: a function of important soil physicochemical characteristics and nutrients. **Ind J Edu Inf Manage**, v. 1, n. 3, p. 126-129, 2012.
- KURAMAE, Eiko E. *et al.* Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 79, n. 1, p. 12-24, 2012.
- KUSTER, E.; WILLIAMS, S. T. Selective media for the isolation of Streptomycetes. **Nature**, vol. 202, p. 928-929, 1964.
- LAL, RATTAN. Soil degradation by erosion. **Land degradation & development**, v. 12, n. 6, p. 519-539, 2001.
- LAMERS, Leon PM *et al.* Microbial transformations of nitrogen, sulfur, and iron dictate vegetation composition in wetlands: a review. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 156, 2012.
- LANGE, M. *et al.* Biotic and abiotic properties mediating plant diversity effects on soil microbial communities in an experimental grassland. **PloS one**, v. 9, n. 5, p. e96182, 2014.
- LANGE, M. *et al.* Plant diversity increases soil microbial activity and soil carbon storage. **Nature communications**, v. 6, p. 6707, 2015.
- LAUBER, Christian L. *et al.* The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2407-2415, 2008.
- LAUBER, C. L., RAMIREZ, K. S., AANDERUD, Z., LENNON, J., FIERER, N. Temporal variability in soil microbial communities across land-use types. **The ISME journal**, v. 7, n. 8, p. 1641-1650, 2013.
- LAURETO, Livia Maira Orlandi; CIANCIARUSO, Marcus Vinicius; SAMIA, Diogo Soares Menezes. Functional diversity: an overview of its history and applicability. **Natureza & Conservação**, v. 13, n. 2, p. 112-116, 2015.

- LEMOS, J. R.; MEGURO, M. Florística e fitogeografia da vegetação decidual da Estação Ecológica de Aiuaba, Ceará, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, vol. 8, n. 1, p. 34-43, 2010.
- LI, JianFeng; ZHANG, ShuQing; LONG, Ying; GUO, JinMei. Growth and phosphate-solubilizing ability of endophytic/rhizospheric phosphatesolubilizing bacteria of *Lonicera japonica* at different temperature and pH environment in rocky desertification habitat. **Southwest China Journal of Agricultural Sciences**, vol. 34 , n. 4 , p. 820-826, 2021.
- LUCENA, V. B., RAIMAM, M. P., CARDOSO, N. A., ALBINO, U. B. Influência de fungos micorrízicos-arbusculares em paricá (*Schizolobiumamazonicum*) cultivado no estado do Pará. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, p. 235-241, 2013.
- MACEDO, Rodrigo Santana *et al.* PROCESSOS PEDOGENÉTICOS E SUSCEPTIBILIDADE DOS SOLOS À DEGRADAÇÃO NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO. **Caminhos de Geografia**, v. 22, n. 81, p. 176-195, 2021.
- MAGURRAN, A. E. Diversity indices and species abundance models. In: **Ecological diversity and its measurement**. Springer, Dordrecht, p. 2-45, 1988.
- MAKI M *et al.* The prospects of cellulase-producing bacteria for the bioconversion of lignocellulosic biomass. **International Journal of Biological Sciences** 5: 500-5167, 2009.
- MANTOVANI, W., ANJOS, L., MONTEIRO, R. F., ARAÚJO, F. S. A conservação da Biodiversidade no Domínio da Caatinga. Em: MANTOVANI, W., MONTEIRO, R. F., ANJOS, L., CARIELLO, M. O. **Pesquisas em Unidades de Conservação no Domínio da Caatinga, Subsídios à Gestão**. Edições UFC, Fortaleza, p. 81–124, 2017.
- MARINARI, S., BONIFACIO, E., MOSCATELLI, M. C., FALSONE, G., ANTISARI, L. V., *et al.* Soil development and microbial functional diversity: proposal for a methodological approach. **Geoderma**, v. 192, p. 437-445, 2013.
- MARTINS, S. C. M. *et al.* Effect of the rest on the recovery of a soil under caatinga of the Brazilian semiarid. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, p. 2194-2204, 2014.
- MARTINS, Fernando Roberto; SANTOS, FAM dos. Técnicas usuais de estimativa da biodiversidade. **Revista Holos**, v. 1, n. 1, p. 236-267, 1999.
- MENDES, L.W. *et al.* Soil-borne microbiome: linking diversity to function. **Microbial ecology**, v. 70, n. 1, p. 255-265, 2015.
- MIRZA, Babur S. *et al.* Response of free-living nitrogen-fixing microorganisms to land use change in the Amazon rainforest. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 1, p. 281-288, 2014.
- MOREIRA, *et al.* Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-74, 2010.
- MORAES, L. M. P. Amilases. In: SAID, S.; PIETRO, R. **Enzimas como agentes biotecnológicos**. Ribeirão Preto: Legis Summa, v. 13, p. 222-242, 2004.
- MOREIRA FMS & SIQUEIRA JO. 2006. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2.ed. Lavras: UFLA. 729p

MUÑOZ-ROJAS, M. *et al.* Soil quality indicators to assess functionality of restored soils in degraded semiarid ecosystems. **Restoration Ecology**, v. 24, p. S43-S52, 2016.

NAEEM, S.; WRIGHT, J. P. Disentangling biodiversity effects on ecosystem functioning: deriving solutions to a seemingly insurmountable problem. **Ecology Letters**, v. 6, n. 6, p. 567-579, 2003.

NAIR, A.; NGOUAJIO, M. Soil microbial biomass, functional microbial diversity, and nematode community structure as affected by cover crops and compost in an organic vegetable production system. **Applied soil ecology**, v. 58, p. 45-55, 2012.

NEWTON, William E. Nitrogen fixation in perspective. In: **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity**. Springer, Dordrecht, 2000. p. 3-8.

NUNEZ-SANTIAGO, M. C.; BELLO-PEREZ, L. A.; TECANTE, A. Swelling-solubility characteristics, granule size distribution and rheological behavior of banana (*Musa paradisiaca*) starch. **Carbohydrate polymers**, v. 56, n. 1, p. 65-75, 2004.

OLIVEIRA, C. A. D., MARRIEL, I. E., GOMES, E. A., LANA, U. G. D. P., Scotti, M. R., & Alves, V. M. C. Diversidade bacteriana da rizosfera de genótipos de milho contrastantes na eficiência de uso de fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44, 1473-1482, 2009.

OSKAY, A. M.; USAME, T.; CEM, A. Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. **African Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 9, p. 441-446, 2004.

PALANIYANDI, S. A. *et al.* *Streptomyces* sp. strain PGPA39 alleviates salt stress and promotes growth of 'Micro Tom' tomato plants. **Journal of Applied Microbiology**, v. 117, n. 3, p. 766-773, 2014.

PANDE, S. *et al.* Fitness and stability of obligate cross-feeding interactions that emerge upon gene loss in bacteria. **The International Society for Microbial Ecology Journal**, 8: 953-962, 2014.

PAPATHEODOROU, E.M.; EFTHIMIADOU, E.; STAMOU, G.P. Functional diversity of soil bacteria as affected by management practices and phenological stage of *Phaseolus vulgaris*. **European Journal of Soil Biology**, v.44, p.429-436, 2008.

PARK, M., KIM, C., YANG, J., LEE, H., SHIN, W., et al. Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. **Microbiological Research**, v. 160, n. 2, p. 127-133, 2005.

PEREIRA, R. C., DE OLIVEIRA, F. R., LIMA, C. P. A., KANASHIRO, U. T. H. **Monitoramento in situ da biodiversidade: Uma proposta para a composição de um Sistema Brasileiro de Monitoramento da Biodiversidade**. Brasília, ICMBio, 61 p, 2013.

PHILIPPOT, Laurent *et al.* Loss in microbial diversity affects nitrogen cycling in soil. **The ISME journal**, v. 7, n. 8, p. 1609-1619, 2013.

PIKOVSKAYA, R.I. Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species. **Mikrobiologiya**, v. 17, p. 362-370, 1948.

PRESCOTT, C. E.; GRAYSTON, S. J. Tree species influence on microbial communities in

litter and soil: Current knowledge and research needs. **Forest Ecology and Management**, [s.l.], v. 309, p.19-27, 2013.

POWELL, J. R.; WELSH, Allana; HALLIN, Sara. Microbial functional diversity enhances predictive models linking environmental parameters to ecosystem properties. **Ecology**, v. 96, n. 7, p. 1985-1993, 2015.

PUPIN, B., NAHAS, E. Microbial populations and activities of mangrove, restinga and Atlantic forest soils from Cardoso Island, Brazil. **Journal of applied microbiology**, v. 116, n. 4, p. 851-864, 2014.

RAAIJMAKERS, J.M. *et al.* The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganism. **Plant and Soil**, Hague, v. 2, p. 341-361, 2009.

RAMOS, Karoline *et al.* Efeito de fatores abióticos sobre a atividade enzimática de actinobactérias de região do semiárido brasileiro. **Enciclopédia Biosfera**, v. 15, n. 27, 2018.

REIS, Veronica Massena; TEIXEIRA, KR dos S. Fixação biológica de nitrogênio-estado da arte. **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica**, v. 28, p. 350-68, 2005.

REIS, M. R.; SILVA, A. A.; GUIMARÃES, A. A.; COSTA, M. D.; MASSENSINI, A. M.; FERREIRA, E. A.; Ação de herbicidas sobre microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico em solo rizosférico de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Viçosa. v. 26, n. 2, p. 333- 341. 2008.

RODRIGUES, H. J. B.; ABREU, L. D.; RUIVO, M. L. P; COSTA, A. C. L., SILVA, R.B.; MOURA, Q. L.; MELLO, I. F. Variabilidade quantitativa de população microbiana associada às condições microclimáticas observadas em solo de floresta tropical úmida. **Revista Brasileira de Meteorologia**, Belém, v. 26, n. 4, p.629-638, 2011.

ROUSK, Johannes *et al.* Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. **The ISME journal**, v. 4, n. 10, p. 1340-1351, 2010.

SANTI, C., BOGUSZ, D., FRANCHE, C. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. **Annals of botany**, v. 111, n. 5, p. 743-767, 2013.

SANTOS, J. Z. L.; FURTINI NETO, A. E.; RESENDE, A. V.; CURI, N.; CARNEIRO, L. F.; COSTA, S. E. V. G. A. Frações de fósforo em solo adubado com fosfatos em diferentes modos de aplicação e cultivado com milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 2, p. 705 - 714, 2008.

SATHYA, Arumugam; VIJAYABHARATHI, Rajendran; GOPALAKRISHNAN, Subramaniam. Plant growth-promoting actinobacteria: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes. **3Biotech**, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2017.

SHARMA, S., KUMAR, V., TRIPATHI, R. B. (2017). Isolation of phosphate solubilizing microorganism (PSMs) from soil. **Journal of microbiology and Biotechnology Research**, v. 1, n. 2, p. 90-95, 2017.

SHARMA, Samriti *et al.* Isolamento e caracterização parcial da amilase produtora de cepas bacterianas superficiais do solo. **Jornal Internacional de Bio-recursos e Gestão do Stress**, v. 9, n. 1, pág. 154-158, 2018.

SILVA, V. M. A., MARTINS, C. M., CAVALCANTE, F. G., RAMOS, K. A., Silva, L. L., Menezes, F. G. R., ... & Martins, S. C. S. Cross-feeding among soil bacterial populations: selection and characterization of potential bio-inoculants. **J Agric Sci**, 11, 1-23, 2019.

SILVA, V. M. A.; BRITO, F. A. E.; RAMOS, K. A.; DA SILVA, R. M.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Enzymatic activity of actinobacteria from semiarid. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, p. 560-572, 2015.

SILVA, M. E. *et al.* Brazilian Cerrado Soil Actinobacteria Ecology. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1-10, 2012.

SINGH, R. N., BAHUGUNA, A., CHAUHAN, P., SHARMA, V. K., KAUR, S., *et al.* Production, purification and characterization of thermostable α -amylase from soil isolate *Bacillus sp.* strain B-10. **Journal of BioScience & Biotechnology**, v. 5, n. 1, 2016.

SINGH, J. S. Microbes: the chief ecological engineers in reinstating equilibrium in degraded ecosystems. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 203, p. 80-82, 2015.

SINGH, B. K. *et al.* Loss of microbial diversity in soils is coincident with reductions in some specialized functions. **Environmental microbiology**, v. 16, n. 8, p. 2408-2420, 2014.

SINGH, P., RANI, A. Isolation and partial characterization of amylase producing *Bacillus sp.* from Soil. **International Journal of Pharm Tech Research**, v. 6, p. 2064-2069, 2014.

SINGH, J. S. *et al.* A comparative account of the microbial biomass-N and N-mineralization of soils under natural forest, grassland and crop field from dry tropical region, India. **Plant Soil Environ**, v. 55, n. 6, p. 223-230, 2009.

SIX, J. *et al.* Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. **Soil Science Society of America Journal**, v. 70, n. 2, p. 555-569, 2006.

SOUZA, L. H. *et al.* Efeito do pH do solo rizosférico e não rizosférico de plantas de soja inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* na absorção de boro, cobre, ferro, manganês e zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 5, p. 1641-1652, 2010.

STEELE, Claude M.; ARONSON, Joshua. Stereotype threat and the intellectual test performance of African Americans. **Journal of personality and social psychology**, v. 69, n. 5, p. 797, 1995.

TARDY, V. *et al.* Stability of soil microbial structure and activity depends on microbial diversity. **Environmental microbiology reports**, v. 6, n. 2, p. 173-183, 2014.

TEIXEIRA, Paulo César *et al.* Manual de métodos de análise de solo. **Rio de Janeiro**, v. 4, 2017.

TORSVIK, V., ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion Microbiology**, 5(3):240-245, 2002.

TRAVASSOS, I. S.; SOUZA, B. I. Solos e desertificação no sertão paraibano. **Cadernos do Logepa**, v. 6, n. 2, p. 101 - 114, 2011.

TRIVEDI, C. *et al.* Losses in microbial functional diversity reduce the rate of key soil processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 135, p. 267-274, 2019.

- TURNER, B. L.; DRIESSEN, J. P.; HAYGARTH, P. M.; MCKELVIE, I. D. Potential contribution of lysed bacterial cells to phosphorus solubilisation in two rewetted Australian pasture soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 187-189, 2003.
- VANCE, Carroll P. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources. **Plant physiology**, v. 127, n. 2, p. 390-397, 2001.
- VAN DER MAAREL, Marc JEC *et al.* Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. **Journal of Biotechnology**, v. 94, n. 2, p. 137-155, 2002.
- VRIES, F. T. de *et al.* Abiotic drivers and plant traits explain landscape-scale patterns in soil microbial communities. **Ecology letters**, v. 15, n. 11, p. 1230-1239, 2012.
- WAGG, C., BENDER, S. F., WIDMER, F., VAN DER HEIJDEN, M. G. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 14, p. 5266-5270, 2014.
- WANG, Yu *et al.* A five-year P fertilization pot trial for wheat only in a rice-wheat rotation of Chinese paddy soil: interaction of P availability and microorganism. *Plant and soil*, v. 399, n. 1-2, p. 305-318, 2016.
- WILSON, P.W., KNIGHT, S.C. **Experiments in bacterial physiology**. Burgess, Minneapolis, USA, 1952.
- YANG, J.K.; ZHANG, J.J.; YU, H.Y.; CHENG, J.W.; MIAO, L.H. Community composition and cellulase activity of cellulolytic bacteria from forest soils planted with broad-leaved deciduous and evergreen trees. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n.3, p.1149-1458, 2014.
- ZAK, J.C.; WILLING, M.R.; MOORHEAD, D.L.; WILDMAN, H.G. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1101-1108, 1994.
- ZHANG, L., FAN, J., DING, X., HE, X., ZHANG, F., *et al.* Hyphosphere interactions between an arbuscular mycorrhizal fungus and a phosphate solubilizing bacterium promote phytate mineralization in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 74, p. 177-183, 2014.
- ZHANG, X., MA, L., GILLIAM, F. S., WANG, Q., LI, C. Effects of raised-bed planting for enhanced summer maize yield on rhizosphere soil microbial functional groups and enzyme activity in Henan Province, China. **Field crops research**, v. 130, p. 28-37, 2012.
- ZILLI, J. É. *et al.* Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 20, n. 3, p. 391-411, 2003.

APÊNDICE A – MEIOS DE CULTIVO

MEIO CASEÍNA DEXTROSE ÁGAR (CDA)

Substância	Quantidade
K ₂ HPO ₄	0,5g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2g
Dextrose	2g
FeSO ₄	0,01g
Caseína	0,2g
Ágar	15g
Água destilada	1000mL

pH 6,5 – 6,6

Fonte: Kuster; Williams, 1964, Arifuzzaman *et al.*, 2010.

MEIO ÁGAR CELULOSE MODIFICADO

Substância	Quantidade
Carboximetilcelulose	5g
MgSO ₄	0,5g
K ₂ HPO ₄	1g
Vermelho Congo	0,2g
Ágar	10g
Gelatina	5g
Água destilada	1000mL

pH 7±0,1

Fonte: Hendricks *et al.*, 1995.

MEIO MÍNIMO COM 2% DE AMIDO

Substância	Quantidade
Dextrose	1g
Amido	20g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,1g
KH ₂ PO ₄	2g
K ₂ HPO ₄	7g
Citrato de sódio	0,5g
Ágar	15g
Água destilada	1000mL

pH 7±0,2

Fonte: Kannan, 1996; Cappuccino; Sherman, 1996.

MEIO ÁGAR PIKOVSKAYA (PVK)

Substância	Quantidade
Dextrose	10g
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5g
Extrato de levedura	0,5g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5g
KCl	0,2g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,1g
NaCl	0,2g
FeSO ₄	0,002g
MnSO ₄	0,002g
Corante Azul de Bromofenol	10mL
Ágar	15g
Água destilada	1000mL

pH 7±0,2

Fonte: Pikovskaya, 1948; Goenadi; Sugiarto, 2000.

MEIO BURK

Substância	Quantidade
Dextrose	10g
K ₂ HPO ₄	0,52g
KH ₂ PO ₄	0,41g
NaSO ₄	0,05g
CaCl ₂	0,2g
MgSO ₄	0,1g
FeSO ₄	0,005g
Na ₂ MoO ₄	0,0025g
Ágar	15g
Água destilada	1000mL

pH 7±0,2

Fonte: Wilson; Knight, 1952; Park *et al.*, 2005.