

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

CAIO TAVORA RACHID COELHO DA COSTA

**Comunidade bacteriana, atributos do solo e fluxo de gases em
solo sob Cerrado e cana-de-açúcar**

Piracicaba
2010

CAIO TAVORA RACHID COELHO DA COSTA

**Comunidade bacteriana, atributos do solo e fluxo de gases em
solo sob Cerrado e cana-de-açúcar**

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Marisa de Cássia Piccolo

Piracicaba
2010

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE. NOME EM CITAÇÃO: **RACHID, C. T. C. C.**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Costa, Caio Tavora Rachid Coelho da

Comunidade bacteriana, atributos do solo e fluxo de gases em solo sob Cerrado e cana-de-açúcar / Caio Tavora Rachid Coelho da Costa; orientador Marisa de Cássia Piccolo. - - Piracicaba, 2010.

126 f.: il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Biologia molecular 2. Carbono 3. Efeito estufa 4. Matéria orgânica do solo 5. Microbiologia do solo 6. Nitrogênio I. Título

CDU 550.47:631.461

Aos muitos mestres que a vida me apresentou,

Ao amor pela ciência.

Ofereço

Aos meus avós (*in memoriam*)

Aos meus pais Laís, Ney, Edu e Lui

Às minhas irmãs, Leila e Luisa

Ao amado sobrinho Iago

Dedico

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a força magnífica que guia as nossas vidas e integra tudo em um ciclo perfeito, Deus!

Agradeço a minha família por ser o pilar que me mantém de pé. Por toda a educação e carinho que me foram dados. Por entender minha ausência constante e acreditar no meu caminho, sabendo que essa é mais uma etapa vencida na busca de um sonho.

Grande obrigado pelo suporte e orientação constantes da Professora Marisa de Cássia Piccolo, com quem aprendi demais e sempre esteve disposta a me ajudar.

Obrigado a todos da Embrapa que de alguma forma tenham contribuído com esse projeto, em especial:

Ao pesquisado Fabiano Balieiro por toda a enorme orientação, incentivo e autonomia que me deu, pela forma agradável do dia a dia de trabalho e valiosa amizade. É o cara!

Ao pesquisador Heitor Coutinho pela arrecadação e gerência dos recursos do projeto, além de sua constante simpatia, educação e prestatividade.

Ao Pesquisador Guilherme Chaer, pelos ensinamentos nas análises multivariadas.

Ao casal de excelentes pesquisadores Alexandre Rosado e Raquel Peixoto, por serem exemplos a seguir, pelo suporte, pela acolhida, pela orientação e também pela grande amizade.

Agradeço também a grande ajuda dos técnicos de laboratório que tanto me auxiliaram Alexandra, Gustavo, Fabiana e Edir. Valeu moçada!

Um obrigado muito especial a uma irmã que a ciência trouxe pra mim. A baiana mais arretada de todos os tempos, Deborah Leite! Valeu parceira por me ajudar tanto e agüentar meus bons e maus humores. Você tem um futuro brilhante!

A todos do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, por toda a ajuda e ensinamentos passados, em especial:

As meninas da administração da pós-graduação e da biblioteca, pelo carinho e atenção sempre presentes.

A galera toda do Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA, pela grande ajuda em inúmeras análises.

Aos alunos do Laboratório de Ciclagem de Nutrientes pelo companheirismo.

À galera toda do Laboratório de Ecologia Molecular Microbiana da UFRJ, pela amizade, companheirismo, ajuda e calorosa acolhida desse Paulista festeiro!
Turma nota 10!

Obrigado a Gabriela por me ajudar tanto no início dessa conquista.

Aos grandes amigos da Universidade Federal de Lavras, pelos constantes incentivos e por compartilhar tanta alegria e força. Vocês são demais!
Obrigado aos amigos de Taubaté, em especial ao Alexandre, por ser um verdadeiro companheiro, presente mesmo quando distante! Valeu de verdade meu Irmão!

Obrigado mais que especial a uma morena linda que me faz sorrir demais. Polliana, obrigado por me trazer tanta motivação e felicidade no final dessa conquista, por ser tão especial pra mim.

Meus agradecimentos ao Interamerican Institute for Global Change Research, à Fapesp e à Faperj pelos recursos destinados à realização desse projeto e à CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Por fim, um grande obrigado aos grandes mestres da viola, que me ajudaram em todas as horas com suas poesias de toda sorte. Valeu pela companhia nos dois anos dedicados a esse trabalho!

“A ciência permanecerá sempre a satisfação do desejo mais alto da nossa natureza, a curiosidade; fornecerá sempre ao homem o único meio que ele possui de melhorar a própria sorte.”

Renan Ernest

RESUMO

RACHID, C. T. C. C. **Comunidade bacteriana, atributos do solo e fluxo de gases em solo sob Cerrado e cana-de-açúcar**. 2010. 126 p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

O cultivo de cana-de-açúcar possui grande importância econômica, e está se expandindo principalmente para a região de Cerrado no Centro-Oeste brasileiro. Com o objetivo de entender a influência do cultivo e manejo da cana-de-açúcar nos atributos químicos, físicos e biológicos do solo de Cerrado, foram estudadas uma área com cana sem queima, uma área de cana com queima e um fragmento de vegetação nativa, no município de Porteirão, GO (17° 55' 35" S 50° 08' 36" O). A estrutura da comunidade bacteriana total (rDNA 16s) e funcional (microrganismos nitrificantes e desnitrificantes) do solo, assim como os diversos fatores físico-químicos foram analisados. Ocorreram alterações significativas em diversos atributos. Os manejos com queima e sem queima sofreram modificações distintas, resultando em áreas com características bem diferentes entre si. As principais alterações observadas, em pelo menos um dos tratamentos, foram relacionadas com os seguintes atributos do solo: aumento de densidade e temperatura, redução da agregação, teores e estoques de C e N, enriquecimento dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, redução do potencial de desnitrificação, mudanças qualitativas e quantitativas no teor de N mineral e nas taxas líquidas de mineralização e nitrificação do N. Os fluxos de gases sofreram poucas modificações em nível de tratamento, sendo os fluxos de CH_4 e N_2O muito baixos nas áreas estudadas. Ocorreram significativas mudanças na estrutura das comunidades de bactérias totais, nitrificantes e desnitrificantes, mas os grupos responderam de formas diferentes às mudanças ocorridas no solo. Os fatores físico-químicos em conjunto, especialmente aqueles relacionados à agregação do solo, mineralogia, fertilidade e temperatura, direcionaram as mudanças na estrutura da comunidade bacteriana total do solo. Porém as mudanças na estrutura dos grupos funcionais, não se explicaram somente por esse padrão, e mostraram a importância da interação biológica na estruturação das comunidades. Os fluxos dos gases provenientes do solo, o potencial de desnitrificação e a ciclagem de C e N de uma forma geral, correlacionaram com as mudanças nas comunidades de bactérias totais e/ou funcionais, mostrando influência da microbiota nesses fatores. Já as taxas líquidas de mineralização e nitrificação do N do solo não correlacionaram, sugerindo uma maior influência de outros fatores.

Palavras-chave: Mudança no uso do solo, microbiota do solo, Cerrado

ABSTRACT

RACHID, C. T. C. C. **Bacterial community, soil properties and gas fluxes in a soil under Cerrado and sugarcane**. 2010. 126 p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

The sugarcane crop plays an important role on Brazilian economy, and is passing through an expansion process concentrated mainly on the Cerrado (savannah) biome (Middle West region of Brazil). In order to understand the influence of sugarcane cultivation and management on soil chemical, physical and biological properties, we studied two sugarcane areas, with (burnt cane) and without burning before harvest (green cane), and a fragment with native vegetation located at the municipality of Porteirão (Goias state, Brazil) (17 ° 55 '35 S "N 50 ° 08' 36" W). We analyzed the structure of total (16S rDNA) and functional (nitrifying and denitrifying microorganisms) soil bacterial community, as well as some physical and chemical factors. Significant changes were observed in several attributes. The management with and without burning responded differently to soil changes, resulting on areas with distinct properties. The changes observed in at least one of the treatments were mainly related to the following soil properties: density and temperature increase, reduction of aggregation, C and N levels, enrichment of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values, denitrification potential reduction, qualitative and quantitative changes in mineral N content and on net mineralization and net nitrification of N. Soil greenhouse gases flows have undergone little change in level of treatment, and the flow of CH_4 and N_2O where very low in studied areas. There were significant changes on structure of total, nitrifying and denitrifying bacteria community, but the groups responded differently to soil changes. The direction of changes in total soil bacterial community structure where given by the interaction of physical-chemical factors together, especially those related to soil aggregation, mineralogy, fertility and temperature. But changes in the structure of functional groups, were not explained only by that standard, and showed great importance of biological interactions on community structure. The flow of greenhouse gases from the soil, the denitrification potential and cycling of C and N in general, correlated with changes in total and/or functional bacterial communities, showing the influence of the microorganisms in these factors. However, the net rates of mineralization and nitrification of soil N did not correlate, suggesting that others factors were involved.

Keywords: Land use change, soil microbiota, Cerrado.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 O bioma Cerrado	13
2.2 Cana-de-açúcar, história e atualidade	15
2.3 Introdução à matéria orgânica do solo	22
2.3.1 Estoque do C em função do uso em solo de Cerrado	24
2.3.2 Nitrogênio no solo	28
2.3.3 Variação natural do sinal isotópico do carbono e nitrogênio na MOS	34
2.4 Agregação do solo	38
2.4.1 Agregados do solo sob enfoque estrutural	38
2.4.2 Agregados do solo sob enfoque ecológico	42
2.5 Gases de efeito estufa e sua relação com o solo	43
2.6 Microbiota do solo e seu estudo através da técnica de DGGE	48
3 OBJETIVOS	54
3.1 Objetivo geral	54
3.2 Objetivos específicos	54
4 MATERIAIS E MÉTODOS	55
4.1 Localização e descrição das áreas	55
4.2 Delineamento experimental	59
4.3 Coleta das amostras de solo para as análises químicas, físicas e biológicas	59
4.4 Classificação pedológica e caracterização da fertilidade dos solos	60
4.5 Estabilidade estrutural dos agregados por via seca	62
4.6 Estado de agregação	62
4.7 Teores e caracterização isotópica do C e N do solo	63
4.8 Estoques de carbono e nitrogênio do solo	63
4.9 Teores de amônio e nitrato, e taxas líquidas de mineralização e de nitrificação do nitrogênio do solo	63
4.10 Fluxos de gases do efeito estufa provenientes do solo	64
4.11 Ensaio de desnitrificação potencial	66
4.12 Análises moleculares microbianas	67
4.13 Análises estatísticas dos dados	69

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
5.1 Propriedades físicas do solo	71
5.2 Teores e estoque de carbono e nitrogênio do solo	72
5.3 Distribuição das classes de agregados e índices de agregação do solo ...	77
5.4 Teores de nitrogênio mineral e taxas líquidas de mineralização e nitrificação	81
5.5 Taxas de desnitrificação potencial	84
5.6 Fluxos de gases de efeito estufa provenientes do solo.....	85
5.7 Estrutura das comunidades de bactérias totais e de bactérias nitrificantes e desnitrificantes.	91
5.8 Relação das alterações nas comunidades microbianas com os diversos atributos do solo.	96
6 CONCLUSÕES	106
REFERÊNCIAS.....	108

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, com cerca de dois milhões de quilômetros quadrados, correspondendo a aproximadamente um quarto do território nacional. Caracteriza-se por apresentar vegetação em diferentes fitofisionomias que vão desde aquela do tipo savana, com predominância de vegetação graminóide e árvores esparsas até àquela tipicamente arbórea, como ocorre nas Matas de Galeria e no Cerradão. Porém, de um modo geral o Bioma possui topografia plana e solos antigos, profundos, bem drenados, e com baixa fertilidade natural (COUTINHO, 1978; REATTO et al., 1998; EMBRAPA, 2005).

Classificado como uma das áreas prioritárias para conservação da biodiversidade no mundo, o Cerrado possui elevada concentração de espécies endêmicas (MYERS et al., 2000). Por sua enorme extensão, possui o potencial de influenciar o balanço de água-energia e carbono de micro e macro regiões (MIRANDA et al., 1997). Apesar disso, a expansão da fronteira agrícola e da pecuária vem ocorrendo em larga escala nas últimas décadas (CONSERVATION INTERNATIONAL, 2008). Atualmente, o cultivo de cana-de-açúcar é o que mais cresce no Cerrado impulsionado principalmente pela produção de etanol, cuja demanda se acentuou com o desenvolvimento dos carros com motores bicombustíveis (IBGE, 2008).

O estado de Goiás, maior produtor de cana-de-açúcar do centro oeste brasileiro, tem o crescimento estimado em 70,6% na área plantada de cana em apenas dois anos (IBGE, 2008; 2009a). Esse cenário segue a atual tendência mundial de popularização dos biocombustíveis como fontes de energia ambientalmente mais “limpas” quando comparadas com a utilização de

combustíveis fósseis como o carvão ou petróleo, sendo uma forma eficiente de redução de emissão de carbono e amenização do “efeito estufa” (CERRI et al., 2007; OLIVEIRA, 2008, MACEDO; SEABRA, SILVA, 2008).

A atividade antrópica modificou o balanço de energia do sistema terra-atmosfera a partir da revolução industrial, alterando a concentração dos gases de efeito estufa (GEE). O Brasil é um dos países que mais contribuem com a emissão desses gases, contudo, entre 75 a 80% dos GEE emitidos para a atmosfera no país não é proveniente da queima de combustíveis fósseis, mas sim de práticas agrícolas não conservacionistas do solo, e de mudança do uso do solo, incluindo o desmatamento, e poderiam ser evitados com melhoria nos manejos e redução do desmatamento. (CERRI; CERRI, 2007; IPCC, 2007).

As mudanças no uso dos solos, além de alterar a emissão dos GEE, também provocam modificações em diversas características físico-químicas do mesmo, incluindo diminuição de macro poros, tamanho dos agregados, taxa de infiltração de água, aumento da densidade do solo, alteração da atividade biológica, alteração na quantidade e qualidade da matéria orgânica, redução da capacidade de troca catiônica do solo, elevação do teor de alumínio trocável, redução dos teores de fósforo, nitrogênio, cálcio e outros nutrientes. A manutenção da produtividade nos ecossistemas depende principalmente das transformações da matéria orgânica, nos processos de ciclagem de nutrientes (ALMEIDA et al., 1988; REINERT et al., 1984; LAL, 2003; VALPASSOS et al., 2001).

O conjunto das alterações ainda reflete na qualidade e diversidade da microbiota do solo, modificando a integridade da capacidade metabólica microbiana do solo, que é fundamental para a sustentabilidade de um

ecossistema (ALEF; NANNIPIERI, 1995; PEIXOTO et. al., 2006; ABOIM et. al., 2008). Mudanças na estrutura das comunidades microbiana podem influenciar os ciclos biogeoquímicos de nutrientes com grande importância agrícola e ambiental, como o carbono e nitrogênio, principalmente se tratando de comunidades específicas, como por exemplo, as bactérias envolvidas no ciclo no nitrogênio (VALPASSOS et al. 2001; BUSTAMANTE et. al., 2006).

O estudo dessas bactérias é difícil através da utilização de métodos convencionais, por isso, faz-se necessário o emprego de técnicas moleculares, que possam acessar a diversidade bacteriana através da extração e amplificação de seqüências de DNA diretamente do solo. Uma alternativa é o uso de técnicas como o DGGE (eletroforese em gel com gradiente desnaturante), que têm sido empregadas com sucesso para a avaliação da comunidade de bactérias totais, nitrificantes e desnitrificantes, mostrando-se uma técnica bastante sensível e com grande poder de identificar alterações induzidas pela mudança do uso ou manejo do solo na estrutura da comunidade microbiana (KOWALCHUK et al., 1998; BOTHE et al., 2000; NICOLAISEN; RAMSING, 2002; ENWALL; HALLIN, 2009).

Em áreas de cana-de-açúcar, não existe consenso sobre o fluxo do GEE e sua relação com alterações nas comunidades de bactérias de processos-chave do solo (CAMPOS, 2003, La SCALA JUNIOR; BOLONHESE; PEREIRA, 2006, PANOSO et al., 2008). Daí a necessidade de estudos, principalmente nas novas áreas de ocupação de cana-de-açúcar.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar como a cana-de-açúcar pode alterar o perfil da estrutura da comunidade bacteriana total (rDNA 16S) e funcional (microrganismos nitrificantes e desnitrificantes) do solo, e os fatores

físico-químicos, tais como densidade, agregação, temperatura, teores de carbono e nitrogênio total, teores de nitrogênio mineral e suas transformações e fluxos de gases de efeito estufa em relação a uma área sob influência da vegetação natural. E mostrar, por meio da integração dos dados por métodos estatísticos multivariados, como os fatores físico-químicos e biológicos se inter-relacionam, e quais processos que apresentam correlações positivas com as variáveis estudadas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O bioma Cerrado

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro compreendendo cerca de dois milhões de quilômetros quadrados, espalhados por 10 estados (Figura 1). Isso representa mais de 20% de todo o território nacional (CONSERVATION INTERNATIONAL, 2008; WWF, 2008).



Figura 1 – Distribuição do bioma Cerrado nos estados brasileiros, (Fonte: WWF)

O bioma abriga a segunda maior diversidade do planeta, sendo a expansão da fronteira agrícola e da pecuária, ocorrido em larga escala nas últimas décadas, sua maior ameaça. (CONSERVATION INTERNATIONAL, 2007; 2008, WWF, 2008).

De acordo com Coutinho (1978), o Cerrado é composto por um mosaico de diferentes fisionomias, que vão do Campo Limpo ao Cerradão, com suas formas intermediárias, denominadas Campo Sujo, Campo Cerrado e Cerrado *stricto sensu*.

Devido à suas terras fartas e preços mais baixos comparados a outras regiões agrícolas o Cerrado passou a ser considerado celeiro agrícola brasileiro. Em 1995 a produção agrícola na região do Cerrado era de 59,6 milhões de cabeças de gado (40% da produção nacional), e 21 toneladas de grãos (25% da produção brasileira). Dez anos depois, já eram quase 100 milhões de hectares explorados, sendo 80% ocupados com pastagens (cultivadas e naturais), e o restante em cultivos diversos. O bioma se tornou responsável pela maior parte da produção de carne, soja e algodão, e possui ainda papel de destaque na produção de milho, arroz, e feijão (MACEDO, 1995, EMBRAPA, 2005).

O Cerrado a é caracterizado por estações de seca e chuva bem marcadas, com precipitação de 1500 ± 500 mm e temperaturas médias de 21,3 a 27,2°C (COUTINHO, 1978, EMBRAPA, 2005). Os solos, em geral são antigos, profundos, bem drenados e com baixa fertilidade natural. Cerca de 46% dos solos do Cerrado são constituídos por Latossolos, com topografia plana a suave-ondulada; normalmente são distróficos, com baixa a média capacidade de troca de cátions. Outros tipos de solo também ocorrem no Bioma, como os Neossolos quartzarênicos os Nitossolos, Argissolos, dentre outros (REATTO; CORREIA; SPERA, 1998, EMBRAPA, 2005).

Considerando a influência ambiental e econômica da região de Cerrado, as conseqüências das mudanças no uso da terra devem ser mais bem estudadas, levando em conta principalmente que devido à enorme área de ocupação, o Cerrado possui potencial de influenciar o balanço de água, e energia e carbono não só em uma escala regional, mas possivelmente também em escala global (MIRANDA et al., 1997; ROSCOE, et al., 2001).

Como importante centro produtor de grãos e carne do Cerrado destaca-se o Sudoeste Goiano. A região é ocupada, em grande parte, com lavouras anuais (predominantemente soja e milho) e pastagens (IBGE, 2006). Atualmente essas culturas têm dado espaço para o cultivo de cana-de-açúcar, que tem crescido em ritmo acelerado na região (Informação Verbal, 2008¹).

Os solos da região são Latossolos derivados de rochas ferromagnesianas, com topografia plana a suave-ondulada, normalmente distróficos e ácidos, com baixa a média capacidade de troca de cátions (REATTO et al., 1998). A vegetação natural é classificada como Cerrado (*sensu stricto*) e Cerradão (Mata seca semidecídua) (COUTINHO, 1978).

O clima da região é do tipo Aw (Köppen) – Tropical, com chuvas concentradas no verão e um período seco bem definido durante a estação de inverno, quando ocorre na região um moderado déficit hídrico. A média anual da precipitação pluviométrica é aproximadamente de 1500 a 1800 mm ano⁻¹ e a média anual da temperatura do ar é de 23°C.

Apesar da grande utilização do Cerrado, e da conversão das terras nativas para áreas agrícolas, poucos estudos objetivam entender o funcionamento do ecossistema e da influência da vegetação de cobertura nos ciclos do carbono e nitrogênio no bioma.

2.2 Cana-de-açúcar, história e atualidade

O histórico da cana-de-açúcar no Brasil foi construído juntamente com a história do próprio país, se tornando um legado econômico cuja importância variou ao longo do tempo. No século XVI o cultivo de cana-de-açúcar foi a base

¹ Comunicação verbal com trabalhadores ligados às atividades agropecuárias da região.

da economia brasileira. O processo de colonização das terras brasileiras se deu com a construção de engenhos que processavam a cana para a produção de açúcar, um importante produto de exportação da época. O cultivo de cana continuou sendo o pilar do comércio exterior do país até o século XVIII, quando foi gradualmente substituído pelo café (FAUSTO, 2006).

Com o início da crise do petróleo, em 1973, os altos preços dos combustíveis, as imposições políticas de países árabes e a crescente demanda por fontes energéticas impulsionaram as nações a buscarem fontes alternativas de energia. Foi assim que, em 1975, o Brasil lançava o Programa Nacional do Álcool, o Pró-Álcool, cujo objetivo era diminuir a dependência em relação ao petróleo importado. O programa foi um sucesso técnico e econômico, e proporcionou um novo ciclo de desenvolvimento econômico baseado no cultivo de cana-de-açúcar (LEITE, 1990).

Mais recentemente, a produção de álcool brasileiro passou por mais um processo de crescimento, que se intensificou nos últimos 5 anos, com o desenvolvimento dos carros bicombustíveis e devido à necessidade de se ter uma alternativa ao petróleo que atingiu bastante elevados preços até 2008 (IBGE, 2009a).

Analisando os dados das Figuras 2 e 3, pode-se perceber uma relação bem íntima entre o aumento na venda dos carros bicombustíveis com aumento na produção e área plantada de cana-de-açúcar no país, principalmente a partir de 2005.

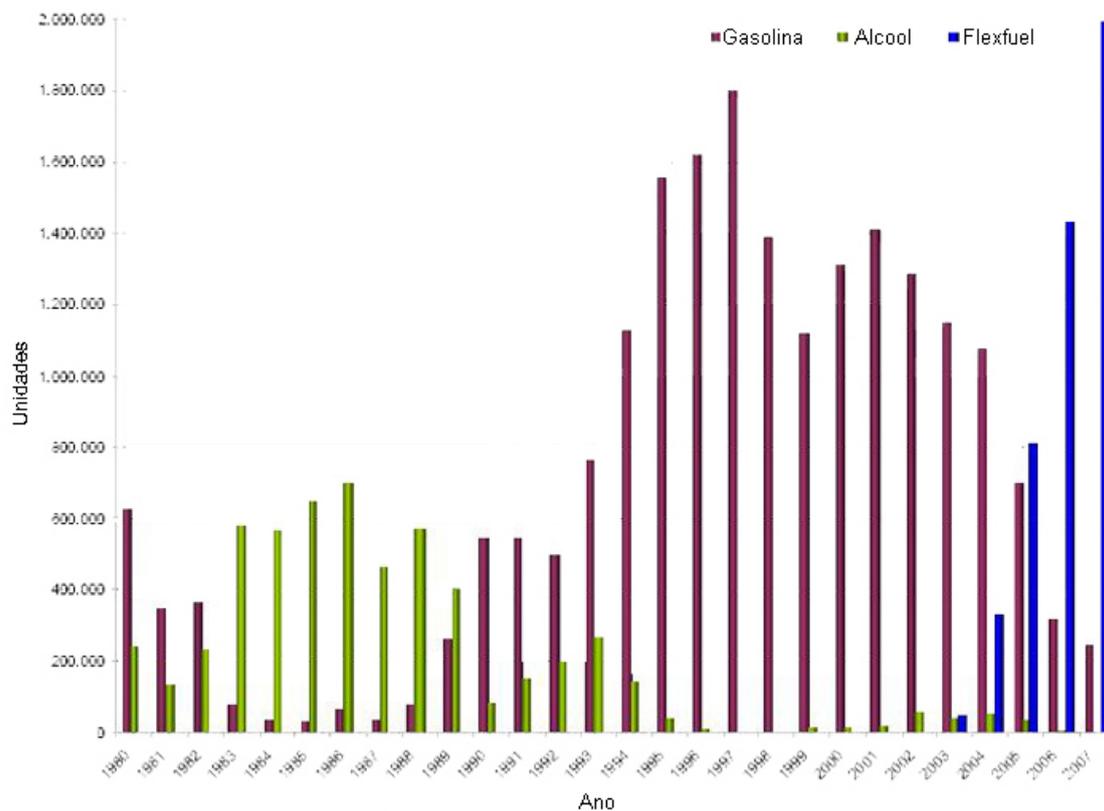


Figura 2 – Vendas de automóveis e comerciais leves por tipo de combustível, entre os anos de 1980 e 2007 (ANFAVEA, 2008)

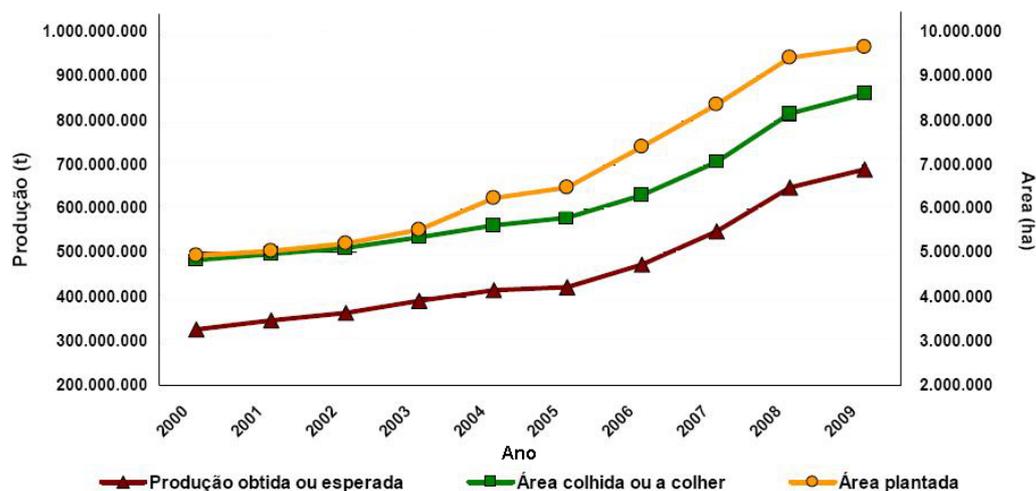


Figura 3 – Produção, área colhida e área plantada de cana-de-açúcar em todo o Brasil, entre os anos de 2000 a 2009 (IBGE, 2009b)

A expansão da área plantada tem mantido um nível acelerado, aumentando em todo o Brasil de cinco para mais de nove milhões de hectares entre 2000 e 2009 (IBGE, 2009b).

Além do fator econômico, o desenvolvimento dos biocombustíveis vem como uma fonte de energia ambientalmente mais correta quando comparado com a utilização de combustíveis fósseis como o petróleo, sendo uma forma eficiente de redução de emissão de carbono (SOARES, et al., 2009; CERRI et al., 2007; OLIVEIRA, 2008; MACEDO; SEABRA; SILVA, 2008). A crescente preocupação com o agravamento do efeito estufa e o processo de aquecimento global fez com que muitos países desenvolvidos buscassem fontes mais “limpas” de combustíveis, e o álcool produzido a partir de cana começou a ser um produto de exportação, tendo um papel importante na economia nacional.

Com o apelo econômico e ambiental, o etanol brasileiro se tornou uma importante *commodity* direcionada tanto para o mercado interno quanto para o mercado externo. As exportações brasileiras de etanol obtiveram recorde em 2008, totalizando o volume de 5,16 gígalitros, gerando aproximadamente 2,4 bilhões de dólares. Esse volume que corresponde a mais do dobro das exportações de gasolina brasileira no mesmo período (BRASIL, 2008).

Todo esse crescimento de mercado e produção exigiu um aumento das áreas cultivadas em cerca de 90% nos últimos nove anos (Figura 3).

O Centro Oeste é a região brasileira que atualmente passa pelo processo mais intenso de expansão canavieira. Isso se dá devido a um conjunto de fatores, entre eles pode-se destacar a disponibilidade de terras de boa qualidade e de fácil mecanização a preços mais baixos em relação ao sudeste (IBGE, 2008b; 2009a) e a proximidade com as regiões já produtoras de cana-de-açúcar, como visto na Figura 4.

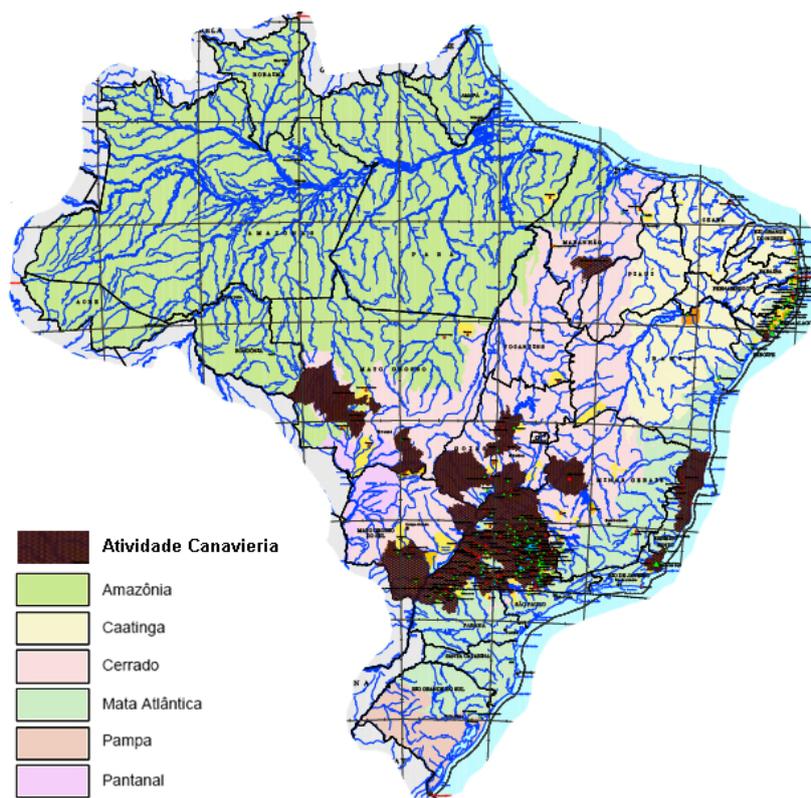


Figura 4 – Distribuição espacial da atividade canavieira nos diversos biomas do Brasil (Adaptado de IBGE, 2005)

Como pode ser observado pelo mapa acima, a maior ocupação canavieira do Centro Oeste está localizada sobre o estado de Goiás, região predominantemente de Cerrado, assim como toda a região mais propensa a expansão nos próximos anos.

O estado de Goiás apresentou em 2008 um crescimento de 43,7% em relação à área plantada de 2007 e deve crescer mais 26,6% em 2009 (IBGE, 2008b; 2009a) se consolidando como maior produtor da região Centro Oeste com valor de produção próximo a um bilhão de reais (Tabela 1).

A crescente expansão da cultura se dá porque a cana apresenta boa capacidade adaptativa, podendo se desenvolver em solos pobres ou com condições físicas não ideais, contudo, responde bem aos solos férteis com boas características físicas e pH (cloreto de cálcio) próximo a seis. Solos ideais

para o cultivo são profundo, bem aerados, com capacidade de retenção de umidade e alta fertilidade (MARIN, 2009).

Tabela 1 – Índices de produção da cana-de-açúcar no estado de Goiás no ano de 2007 (IBGE, 2008a)

Índice	Valor
Quantidade Produzida (t)	22.387.847
Valor da Produção (R\$)	824.499.000
Área Plantada (ha)	278.000
Área Colhida (ha)	278.000
Rendimento Médio (kg/ha)	80.531

Apesar da facilidade em se adaptar, o cultivo de cana-de-açúcar está entre um dos mais exigentes em termos energético, devido a intensa utilização de maquinário juntamente com a aplicação de herbicidas, fungicidas, inseticidas e grandes quantidades de fertilizantes (HOLT; MAYER, 1998).

O desenvolvimento sucroalcooleiro na década de 50 buscava a redução de custos e facilidade de manejo, de forma que o manejo de cana se baseou na queima antes da colheita, como forma de facilitar o processo. No entanto, mais recentemente a maior preocupação com o meio ambiente está transformando as práticas adotadas, e a utilização da vinhaça como fertilizante da cana, e a colheita da cana sem queima com a manutenção da palhada no solo vem sendo adotada com maior frequência (PINHEIRO, et al., 2007).

A queimada dos canaviais tem sido objeto de grande discussão, e por razões ambientais e de saúde pública, leis específicas tem sido criadas tanto no âmbito estadual quanto municipal, impondo prazos para o fim dessa prática (CASTRO, 2008).

O fim da queimada e a manutenção da palhada da cana no solo dificultam a colheita, mas resultam em aumento da produtividade e beneficiam algumas características do solo como: melhoram a infiltração de água, previne

a erosão, mantém a umidade do solo, evitam a perda de carbono e nitrogênio, melhoram atividade biológica do solo, aumentam o teor de magnésio e potássio, reduzem o teor de alumínio no solo e controlam a temperatura e o crescimento de ervas daninha (URQUIAGA et al., 1991).

Apesar dos benefícios, quase a totalidade dos produtores de cana ainda fazem a queimada previamente à colheita e utilizam o cultivo convencional para a reforma dos canaviais, com a arados, subsoladores, sulcadores e entre outros maquinários (SOARES et al., 2009).

O crescimento contínuo de monoculturas pode causar grandes mudanças no equilíbrio natural dos ecossistemas. O tipo de solo e manejo das culturas agrícolas possuem influências diretas nas condições físico-químicas e biológicas dos solos. Diferentes técnicas de manejo promovem de forma diferencial a disponibilidade de determinados nutrientes, culminando em uma situação que favorece ou inibe o estabelecimento de certos grupos microbianos (CARDOSO et al., 1992).

É muito importante desenvolver formas de manejos e métodos de produção do álcool de cana-de-açúcar que sejam baseados em um melhor desempenho ambiental. Portanto é necessário aprofundar os estudos e otimizar diversos fatores envolvidos na produção, dentre os quais, a dinâmica de insumos, emissão de gases de efeito estufa, prática de queima, manejo de resíduos culturais, intensidade de danos às áreas, manutenção da matéria orgânica do solo entre outros (BORRERO et al. 2002).

2.3 Introdução à matéria orgânica do solo

A matéria orgânica do solo (MOS) é composta por material heterogêneo constituído principalmente por carbono e nitrogênio, e é acumulada por meio da biomassa e detritos orgânicos. Em um ecossistema em equilíbrio ela se encontra em níveis relativamente estáveis nos quais a taxa de deposição é equivalente à de decomposição. Mudanças no uso ou manejo do solo quebram esse equilíbrio, modificando o balanço da matéria orgânica no solo (SILVEIRA; FREITAS, 2007).

Quando uma cobertura vegetal é retirada e substituída por outra a matéria orgânica do solo sob ela passa por dois processos simultâneos. O primeiro é a perda contínua de MOS já existente, proveniente da vegetação nativa, que sofre contínua mineralização sem, no entanto, ser renovada. O segundo é a contínua entrada de nova matéria orgânica proveniente de exudatos e resíduos culturais do cultivo implantado. O novo material pode ser incorporado ou ainda ser perdido juntamente com a matéria orgânica antiga (CERRI et al., 1991a).

A MOS pode ser divididas basicamente em duas frações, uma biodegradável e outra estável. A redução da matéria orgânica do solo ocorre de forma diferencial nas duas frações. Ao longo do tempo, o que se observa é a perda preferencial da matéria orgânica da fração biodegradável (mais lábil), com perdas menores ou mais lentas na fração estável (CERRI et al., 1991a). Quando o solo passa de uma condição natural, para o cultivo, ocorrem modificações nas características físicas e químicas do mesmo. A intensidade dessas modificações varia de acordo com a cultura ou o manejo do solo. Entre as alterações estão à diminuição de macroporos, tamanho dos agregados, taxa

de infiltração de água, aumento da densidade do solo, alteração da atividade biológica e alteração na quantidade e qualidade da matéria orgânica (REINERT et al., 1984; LAL, 2003).

A manutenção da produtividade nos ecossistemas depende principalmente das transformações da matéria orgânica, e dos processos de ciclagem de nutrientes a ela associados (REINERT et al., 1984; VALPASSOS et al., 2001; LAL, 2003). Portanto, a manutenção de quantidades apropriadas da MOS pode assegurar a sustentabilidade de sistemas de produção.

A redução da MOS é um dos grandes problemas encontrados em solos tropicais, e entre as principais conseqüências desse fenômeno destacam-se a redução da capacidade de troca catiônica do solo, elevação do teor de alumínio trocável, redução dos teores de fósforo, nitrogênio, cálcio e outros nutrientes (VAN RAIJ, 1978; SÁ et al., 2009). As propriedades físicas do solo também são afetadas com tal redução, principalmente no que diz respeito à infiltração de água, retenção de umidade (ALMEIDA et al., 1988; FIGUEIREDO, RAMOS, TOSTES, 2007).

A atividade biológica do solo também é afetada pela perda de MOS, haja vista que ela é a principal fonte de alimento para uma grande faixa de macro e microrganismos. Sistemas que conseguem manter maior teor de matéria orgânica resultam também em maior atividade microbiana (ALMEIDA et al., 1988; SANTOS et al., 2004). As mudanças no manejo do solo, em geral, estão relacionadas com mudanças nos ciclos biogeoquímicos do carbono e do nitrogênio, e possui influência significativa sobre as características físicas e microbiológicas do solo (VALPASSOS, et al., 2001).

2.3.1 Estoque do C em função do uso em solo de Cerrado

Devido a suas características atômicas, o carbono (C) é capaz de se combinar em uma grande diversidade de formas, dando origem a milhares de compostos diferentes que existem tanto na forma orgânica quanto inorgânica. É um elemento que sofre contínuas transformações, transitando entre os diversos reservatórios de carbono que existem na natureza ao longo do tempo (Figura 5).

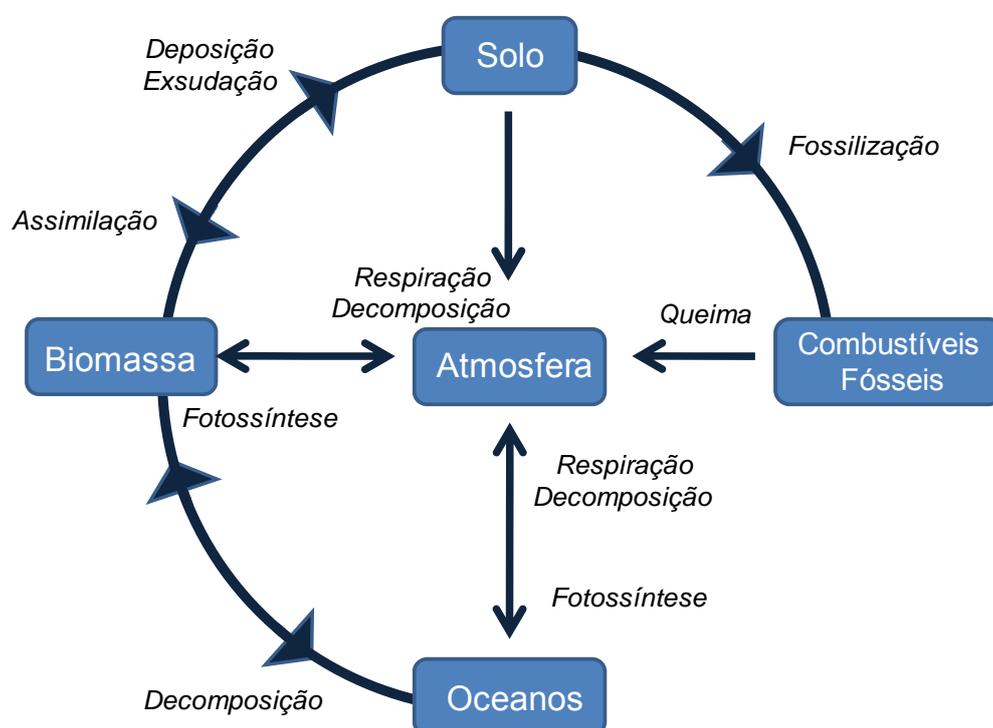


Figura 5 – Dinâmica do carbono nos reservatórios naturais.

O solo possui um importante papel no ciclo do carbono representando o maior estoque desse elemento nos ecossistemas terrestres (WATSON, 2001). A conversão de sistemas naturais para agrícolas podem influenciar fortemente a dinâmica desse nutriente, alterando as concentrações e estoques de C do solo, assim como propriedades associadas, como densidade e estrutura do solo, haja vista que o C é o principal componente da matéria orgânica do solo (NEILL et al., 1998).

A manutenção dos teores de carbono no solo são cuidados preconizados na agricultura moderna, como forma de conservar o solo e evitar os danos provocados pela perda de matéria orgânica.

Em estudo realizado em Piracicaba (SP) no qual a floresta original foi removida para cultivo intensivo de cana-de-açúcar, houve uma redução da matéria orgânica do solo (Latosolo, 0-20cm) de 71,9 para 44,6 t C ha⁻¹ nos primeiros 12 anos, sendo que do carbono remanescente, aproximadamente 25% já eram provenientes do cultivo de cana, e não do húmus da mata original (CERRI et al., 1991b).

Bramley et al. (1996) compararam seis locais diferentes na Austrália, cultivados com cana-de-açúcar por 20 anos ou mais, com áreas adjacentes que nunca foram cultivadas com cana-de-açúcar e não encontraram evidências de alterações gerais em diferentes atributos do solo, incluindo o carbono orgânico do solo.

Pinheiro et al. (2007) avaliaram a influência da queima ou manutenção da palhada sobre os estoques de carbono no solo (Argiloso Amarelo arenoso) em Cerrado no município de Linhares (ES). No estudo foi encontrado aumento significativo nos estoques de C tratamento sem queima, mas apenas para a camada superficial do solo (0-10cm). Os valores encontrados foram em média de 14,8 e 10,9 Mg ha⁻¹ para cana crua e cana queimada respectivamente.

O efeito da manutenção/queima da palhada, aplicação de vinhaça e fertilização nitrogenada em duas áreas de cana (Mata Atlântica e Agreste) foi determinado em plantios monitorados de 1986 até 1999 em Timbaúba (PE). Verificaram efeito significativo da manutenção da palhada, que diminuiu a dependência das chuvas, aumentou a produtividade (25%), atenuou a

compactação do solo (Luvissolo Crômico Órtico) e aumentou os teores de C e N solo (0-10 cm), sem refletir, no entanto, nos estoques de C do solo (0-20 cm) (RESENDE, et al., 2005).

Com a expansão da cultura canavieira para as áreas de Cerrado surge a preocupação do efeito do cultivo da cana-de-açúcar nos solos do bioma. Até o momento há carência de dados sobre o efeito da introdução dessa cultura nos estoques de carbono do solo. No entanto, diversos estudos relatam mudanças nos estoques quando esse bioma é submetido à outras praticas de cultivo como será debatido a seguir.

Em área de Cerradão (Rio Verde, GO), foram determinados teores e estoques de carbono do solo (0-10 cm) de 30 g kg⁻¹ e 29 t C ha⁻¹ respectivamente (COSTA-JÚNIOR, 2008), com redução significativa nas áreas manejadas sob áreas manejadas para fins agrícolas.

Marchetti (2005) comparou o Cerrado natural com uma área de sistema plantio convencional (18 anos) e cinco (Rio Verde, GO), com sistema plantio direto, de diferentes idades (1, 4, 8, 10 e 12 anos) e encontrou teores de C que variaram de 15 g kg⁻¹ (plantios direto mais jovens) a 30 g kg⁻¹ (Cerrado nativo).

Os teores de matéria orgânica, densidade, umidade e água armazenada nos solos (Latosolo Vermelho de textura argilosa) de uma área de Cerrado nativo (Unaí, MG) foram comparados com uma área de Cerrado nativo recém revolvido com gradagem (1 ano), uma área de plantio direto (6 anos) e duas áreas de pastagem (12 anos) degradadas, sendo que uma delas foi submetida à reforma no último ano. Foi verificado aumento da densidade nas áreas cultivadas, assim como diminuição na porosidade total. Os teores de matéria orgânica mais elevados foram observados nas áreas de Cerrado nativo e na

área com plantio direto, com teores intermediários nas áreas de pastagem e menores na área de Cerrado revolvido (FIGUEIREDO, RAMOS, TOSTES, 2007).

Não foram observadas diferenças significativas nos estoques de C entre os usos e manejos do solo (Latossolo Vermelho distrófico) no perfil do solo (0-100cm) sob Cerrado, pastagens, plantios diretos e plantios convencionais em Mourinhos (GO) (d'ANDREA, 2004).

Roscoe et al. (2001) encontraram teores de C de aproximadamente 2,0 a 4,0 g kg⁻¹ em Cerrado e não observaram diferenças significativas no estoque de C ao comparar a vegetação natural (Cerrado) e uma pastagem de *Brachiaria spp.* com 23 anos de implantação, em Latossolo argiloso em Sete Lagoas (MG).

Varela et al. (2004) verificaram redução nos teores de C do solo (Latossolo) em área de pastagem (20 anos de estabelecimento) em relação ao Cerrado natural, com valores médios de 24,1 e 47,4 g Kg⁻¹ respectivamente.

Em áreas previamente cobertas por Cerrado *stricto sensu*, em um Latossolo Vermelho distrófico argiloso, em Sete Lagoas (MG), não foram registradas perdas nos estoques de C após 30 anos de cultivo convencional de grãos (ROSCOE; BUURMAN, 2003).

Em outro estudo, na mesma região, foram avaliados três sítios de Cerrado, com diferentes intensidades de fogo. Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os três Cerrados, em relação ao C e N totais e em também em relação à proporção C:N, sugerindo pouca influência do fogo nesses fatores para esse bioma (ROSCOE et al., 2000).

Paiva e Faria (2007) verificaram, em Cerrado *strictu sensu* próximos a Brasília, teores e estoques de carbono no solo (0-10 cm) de 2,73 g kg⁻¹ e 19,37 t C ha⁻¹ respectivamente.

2.3.2 Nitrogênio no solo

O nitrogênio é elemento indispensável para os seres vivos, pois é constituinte de aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos. Ele existe em diversas formas na natureza (Figura 6), mas principalmente na forma de N₂, o qual poucos organismos são capazes de assimilar. A exceção é por parte de organismos ditos diazotróficos, que podem fixar o biologicamente o nitrogênio atmosférico em nitrogênio orgânico.

Não existem medidas exatas sobre a contribuição da fixação biológica do nitrogênio (FBN) para o total de nitrogênio presentes no ecossistemas, mas sabe-se que em Cerrados a FBN é muito importante. Alguns trabalhos reportaram taxas de fixação entre 9 a 44 kg N ha⁻¹ ano⁻¹ podendo ser responsável pela maior parte do N presente no solo (BUSTAMANTE, 2006).

A maior parte de N nos solos está ligada a MOS, na qual o teor total desse elemento encontra-se na faixa de 0,05 a 0,5%, e aproximadamente 5% do N-total encontra-se em formas inorgânicas como o amônio e nitrato (WHIETHÖLTER, 2000).

O N orgânico no solo passa para as formas minerais através da decomposição da MOS, que é mediada principalmente por ação microbiana. Esse processo é conhecido como mineralização e uma diversidade muito grande de organismos é relacionada com essa atividade.

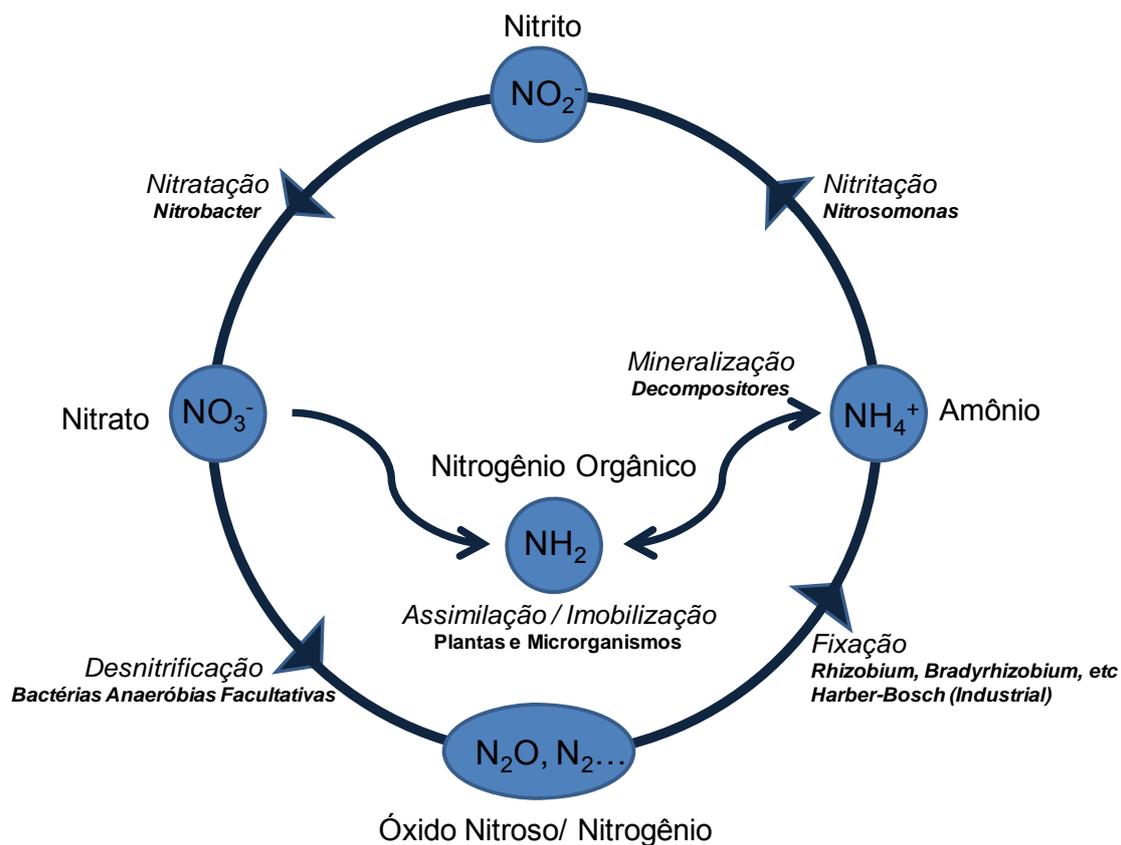


Figura 6 – O ciclo do nitrogênio no sistema solo atmosfera.

A conversão do amônio para nitrato, denominada de nitrificação, depende de bactérias específicas para ocorrer, e os principais gênero envolvido são *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, mas outros como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Corynebacterium* e *Achromobacter* também são capazes de nitrificar a amônia (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A desnitrificação é o processo de redução biológica do nitrato, ou nitrito para N_2O , NO , ou até mesmo N_2 , e ocorre simultaneamente ao processo de mineralização do N-orgânico no solo, e é uma das principais vias de perde de N do solo (BOUWMAN, 1998). Inúmeros gêneros bacterianos são capazes de desnitrificar formas oxidadas de nitrogênio, entre eles estão: *Alcaligenes*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Halobacterium*, *Hyphomicrobium*, *Parococcus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*,

Rhodopseudomonas e *Thiobacillus* (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Uma elevada diversidade genética de bactérias desnitrificantes pode proporcionar maior estabilidade nos processos de redução do nitrito e nitrato (YOSHIE et al. 2001).

A lixiviação do nitrato, e a volatilização da amônia também são formas comuns de perda do N do solo. A volatilização pode ocorrer sob condições naturais, mas é acentuada sob ação do fogo, que pode ainda provocar perdas de N através de material particulado em cinzas (BUSTAMANTE, et al., 2006).

Historicamente, a relação entre mineralização, nitrificação e imobilização do N no solo era estudada principalmente em função da relação C:N de cada solo, sendo essa relação o fator principal de direcionamento do fluxo do N no sistema. Essa é uma ferramenta útil na comparação entre diferentes tipos de solo, no entanto, sabe-se hoje que outros fatores (pH, biomassa microbiana, conteúdo de água, qualidade da liteira entre outros) são de extrema importância, e alguns (respiração, conteúdo de ATP, índice de lignina-celulose) podem ter correlações mais fortes do que a relação C:N para determinar o destino do N no solo e prever as taxas de degradação da MOS (MELLILO et al., 1989, BENGTSSON, BENGTSSON; MANSSON, 2002; NARDOTO; BUSTAMANTE, 2003).

A manutenção de teores adequados de nitrogênio no solo é fundamental para a fertilidade das terras e manutenção da produção, assim como para atingir a sustentabilidade em longo prazo. O Cerrado é conhecido por ter terras de boa qualidade física, mas de baixa fertilidade. Conhecer o comportamento do N no solo desse bioma, assim como as modificações induzidas nos seus estoques devido à introdução do cultivo é, portanto, de grande importância.

Em uma área sob cultivo de cana no município de Linhares (ES), na qual a vegetação nativa era composta de Cerrado, compararam-se os estoques de N no solo (Argissolo Amarelo arenoso) de uma área cultivada com cana crua e outra com cana queimada, e verificou-se respectivamente valores de 1,3 e 0,8 Mg ha⁻¹ para a camada superficial (0-10), representando acréscimo significativo nos estoques para a área sem queima (PINHEIRO et al., 2007).

Em estudo realizado em Rio Verde (GO), com diversos manejos agrícolas (plantio direto, convencional e pastagem) foi observado maiores teores de N-total do solo (0-10 cm) no Cerradão (2,0 g kg⁻¹) em comparação com as áreas manejadas (Siqueira Neto, 2006).

Na mesma região, Costa-Júnior (2008) avaliou a influência de manejos agrícolas de plantio convencionais (29 anos) e plantio direto (3, 7, 10 e 15 anos) no solo sob Cerrado. Os teores de N no Cerrado nativo foram de aproximadamente 1,21 g kg⁻¹ (0-10cm) não tendo diferenças significativas em relação às áreas manejadas.

Varela et al. (2004) comparam uma área de Cerrado nativo com área de pastagem (20 anos de estabelecimento) em relação aos estoques de N e teores de N mineral no solo (Latossolo). Não foram percebidas alterações nos estoques de N total, mas sim nos teores de N mineral com variações sazonais de 1,2 a 9 mg kg⁻¹ na pastagem e de 3,5 a 17,4 mg kg⁻¹ no Cerrado e porcentagem de nitrato, no total de N-inorgânico variando de 1 a 19%.

Em outro estudo, em Latossolo Vermelho distrófico sob Cerrado, pastagens, plantios diretos e plantios convencionais, foram comparados quanto aos estoques de N total e de N-mineral (amônio e nitrato, 0-100 cm), no município de Mourinhos (GO), em solo. Foram encontradas diferenças

significativas principalmente na camada superficial (0-10 cm) com maiores valores de amônio na área com Cerrado (42 mg kg^{-1}) em relação às demais áreas que apresentaram teores de 12 até 20 mg kg^{-1} . Os teores de nitrato também apresentaram valores significativamente diferentes, e os tratamentos com plantios diretos apresentaram os maiores. O estudo ainda testou a correlação desses teores com o pH do solo, e não verificou correlação com o nitrato, mas encontraram correlação moderada do pH com os teores de amônio (d'Andréa et al., 2004).

Nardoto e Bustamante (2003) estudaram a influência do fogo sobre a dinâmica do nitrogênio e biomassa microbiana em solo (Latosolo Vermelho distrófico) sob Cerrado. Verificaram que a biomassa microbiana não era influenciada pelo fogo, mas sofria variações sazonais, com maiores valores no início das chuvas. A dinâmica do nitrogênio apresentou o mesmo padrão de mineralização/imobilização para as áreas com e sem ocorrência de fogo com predominância de amônia e baixas concentrações de nitrato. Foram observadas ainda alta variação nas taxas líquidas de mineralização (15 a $-20 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) e nitrificação (-2 a $5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) do N do solo ao longo do ano.

Balota et al. (2004) estudando o efeito do manejo do solo e diferentes sucessões de culturas encontraram taxas líquidas de mineralização do N no solo de $0,13$, $0,08$ e $0,08 \text{ g kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, respectivamente para as sucessões soja/trigo, milho/trigo e algodão/trigo cultivados em sistema plantio direto, representando valores em média 74% superiores aos observados em sistema de plantio convencional.

Quantificar o processo de desnitrificação não é uma tarefa fácil, haja vista os inúmeros processos no qual o nitrogênio está envolvido. Medir a desnitrificação pelo seu produto terminal (N_2) se mostra inviável devido a abundância natural desse elemento na atmosfera, além do fato de existirem produtos intermediários (NO , N_2O) que devem ser igualmente mensurados. A medição pelo consumo de nitrato também se mostra difícil, pois esse íon pode ser consumido por plantas, por microrganismos heterótrofos, pode sofrer redução para NH_4^+ , lixiviação, além de poder ser produzido pelo processo de nitrificação (ROBERTSON, et al., 1999).

No ensaio de desnitrificação potencial, ao meio é adicionado um bacteriostático, e os fatores limitantes do processo de desnitrificação (O_2 , NO_3^- e C) são colocados em condições ótimas para atividade desnitrificante das bactérias (anaerobiose, fonte de carbono e nitrato não limitante). Dessa forma, mede-se a taxa máxima de desnitrificação que determinada amostra poderia apresentar se no ambiente natural os fatores limitantes não estivessem ocorrendo. Essa medição se dá unicamente em função da atividade enzimática presente na amostra, e se torna uma referência à atividade microbiana presente nesse solo.

Originalmente pensou-se que a atividade da enzima desnitrificante (DEA) seria fortemente correlacionada com a atividade desnitrificante real, no entanto, como revisado por Groffman (1999) a correlação nem sempre ocorre, pois a enzima persiste viável, mas sem atividade no solo, e volta a atividade em condições de laboratório. Contudo, esse valor ainda é muito útil na comparação de diferentes amostras, pois responde bem à variações em longo prazo nos fatores que controlam a desnitrificação.

Castaldi e Aragosa (2002) compararam os valores de DEA em solo sob vegetação arbustiva do mediterrâneo, no qual avaliaram a influência do fogo assim como sua correlação com os teores de amônio, nitrato, teor de água e carbono. Nas condições do experimento não conseguiram verificar diferenças significativas nos valores de DEA entre a área controle e as áreas queimadas, nem correlações positivas que explicassem as variações entre os fatores descritos com os valores obtidos para todas as épocas de coleta. Isso evidencia a complexidade de fatores influenciam as transformações do nitrogênio no solo, e a necessidade de aprofundamento das pesquisas.

2.3.3 Variação natural do sinal isotópico do carbono e nitrogênio na MOS

Uma das ferramentas comumente empregadas no estudo da dinâmica da matéria orgânica do solo é a determinação do sinal isotópico do carbono e do nitrogênio. Diversos estudos utilizam dessa técnica para estudar a influência do uso ou manejo do solo na dinâmica do carbono e nitrogênio (MIRANDA et al.1997; NEILL et al., 1999; ROSCOE et al., 2000; ROSCOE et al., 2001; COLETTA et al., 2009).

Elementos e seus isótopos co-existem naturalmente, em concentrações relativamente constantes no meio ambiente. Porém, diversos processos biológicos, tais como fotossíntese, mineralização entre outros possuem a característica de fracionar as concentrações dos diversos isótopos de forma diferencial (FARQUHAR et. al., 1989, NALDHOFFER; FRY, 1994).

Como exemplo, podemos citar o processo de fotossíntese de plantas de metabolismos C3 e C4. Durante a absorção do CO₂ as plantas de ciclo C3

produzem um fracionamento isotópico diferente das plantas de ciclo C₄, devido as propriedade (FARQUHAR et. al., 1989).

Devido a diferença entre a proporção de isótopos do C encontrados em plantas de ciclos fotossintéticos diferentes, é possível usar o emprego da técnica isotópica no estudo da dinâmica da MOS (CERRI et al., 1991a; NATELHOFER; FRY, 1988). Quando uma vegetação de um tipo de ciclo fotossintético, por exemplo, é convertida em vegetação de outro ciclo, é possível acompanhar a ciclagem na matéria orgânica, conforme ela vai sendo substituída pela nova vegetação, já que terão valores de $\delta^{13}\text{C}$ discrepantes entre si.

A composição isotópica do N no solo também é determinada pelo teor de ^{15}N do N que entra e sai do sistema, e sofre ainda influência do fracionamento isotópico que ocorre durante as transformações do N dentro do ecossistema. Em geral, se observa um enriquecimento do N ao longo do perfil do solo, provocado pela decomposição da matéria orgânica (NALDHOFFER; FRY, 1994, BUSTAMANTE et al., 2004).

Um estudo sobre a composição isotópica das plantas de Cerrado na região próxima à Brasília mostrou que praticamente todas as gramíneas da região, pertencem às plantas de ciclo C₄ com valores isotópicos médios de -13‰, e as demais plantas pertencem ao ciclo C₃ com valores isotópicos de -28,1‰. Foi determinado ainda o valor isotópico do CO₂ respirado do solo e planta, que variou entre -21,8‰ a -23,7‰ mostrando que a proporção de plantas C₃ na origem da matéria orgânica varia de 60 a 70% para aquela região (MIRANDA et al.1997).

Em Sete Lagoas (MG), em um Latossolo vermelho escuro com teor de argila médio-alto (600 g kg^{-1}), foram avaliados áreas de Cerrado submetidos à diferentes intensidades de fogo. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ do solo variaram entre $-23,11\text{‰}$ à $-25,80\text{‰}$ entre os três Cerrados, com um enriquecimento isotópico do solo em relação à serrapilheira em todos os locais. Não foi verificado efeito aparente do fogo em relação aos valores isotópicos da matéria orgânica (ROSCOE et al., 2000).

Em outro estudo realizado sob Latossolo muito argiloso ($> 850 \text{ g kg}^{-1}$), também em Sete Lagoas (MG), foram determinadas a composição isotópica do C no solo sob duas áreas de Cerrado, que apresentaram valores médios de $-24,24\text{‰}$ e $-23,36\text{‰}$, e valores ligeiramente maiores na camada superficial (0-10 cm). Foi determinado também um aumento significativo no valor de $\delta^{13}\text{C}$ ao longo do perfil do solo em função da mudança do uso do solo para pastagens (ROSCOE et al., 2001).

Coletta et al. (2009) estudou os valores isotópicos do solo (Neossolo quartzarênico) e vegetação em área de Cerrado (Santa Rita do Passa Quatro, SP) e encontrou valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de $-25,7\text{‰}$ e $4,2\text{‰}$ respectivamente, N total de $0,6 \text{ g kg}^{-1}$ e sinal isotópico da vegetação arbórea de $\delta^{13}\text{C}$ entre $-28,9\text{‰}$ e $-32,6\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N}$ entre $-0,7$ e $0,6\text{‰}$.

Pinheiro (2007) avaliou a influência da queima ou manutenção da palhada da cana sob solo de Cerrado (Argiloso Amarelo arenoso, Linhares, ES), observando valores de $\delta^{13}\text{C}$ do solo iguais para as áreas de cana crua e cana queimada (-17‰ e -18‰ respectivamente). No entanto nas áreas aumento significativo no valor de $\delta^{13}\text{C}$ foram observados quando comparadas à área de Cerrado (-27‰).

Nardoto (2005) avaliou a influência do fogo nos teores e sinal isotópico do C e N solo (Latosolo Vermelho escuro) de duas áreas de Cerrado (Brasília, DF), uma das áreas sob regime de queimadas controladas a cada 2 anos por cerca de 10 anos, e outra sem queimada. Foram medidos teores médios de carbono e nitrogênio respectivamente de 45 e 2,4 g kg⁻¹ e valores de $\delta^{15}\text{N}$ de 2,8 a 3,8‰, sem diferenças significativas entre as áreas. Aparentemente, o fogo não exerceu influência sobre esses fatores no solo de Cerrado, contudo, o $\delta^{13}\text{C}$ ficou consistentemente mais enriquecido na área com ocorrência de queimadas.

Foi determinado o valor isotópico do N do solo (0-500 cm) nas fisionomias do Cerrado chamadas de Cerrado *strictu sensu*, Cerrado denso (ambos Latossolo Vermelho escuro) e campo sujo (Latosolo Vermelho amarelo), na reserva florestal do IBGE, em Brasília (DF), sendo observado um valor de $\delta^{15}\text{N}$ na camada superficial de 4,7‰, 3,5‰ e 4,3‰ respectivamente, com marcante enriquecimento (~8‰) ao longo do perfil 0-100 cm (BUSTAMANTE, et al., 2004).

Outro estudo, localizada na mesma reserva florestal, descreveu o efeito da umidade no solo, em Mata de Galeria, em um solo com três graus de interferência da água. Foram verificados valores de $\delta^{15}\text{N}$ de 4,07‰, 3,95‰ e 4,65‰ para os solos úmidos, intermediários e secos, respectivamente, sem diferenças significativas e com enriquecimento (~5‰) ao longo do perfil do solo (0-100 cm) (PARRON; BUSTAMANTE; CAMARGO, 2004).

Martinelli et al. (1999) estudaram os teores e a composição isotópica do N da matéria orgânica de solos tropicais e temperados e verificaram que os solos tropicais apresentavam maior enriquecimento (~9,5‰) em comparação

com os solos temperados (~2‰), sugerindo que a ciclagem do N nos trópicos é mais intensa, produzindo maior fracionamento isotópico e resultando no enriquecimento do ^{15}N no solo.

2.4 Agregação do solo

2.4.1 Agregados do solo sob enfoque estrutural

A estrutura do solo é, entre outras, representada pelo grau de estabilidade dos agregados do solo (BRONICK; LAL, 2005). A formação e a estabilização dos destes ocorrem mediante a atuação de processos físicos, químicos e biológicos, que são mediados de acordo com a presença de substâncias e agentes de agregação e estabilização. A divisão em classes de tamanho diferentes está baseada em propriedades tais como ligantes e distribuição do carbono e nitrogênio no solo (SILVA; MIELNICZUK, 1997; BRONICK; LAL, 2005).

Alterações na cobertura vegetal e mudanças no manejo alteram um conjunto de fatores que afetam a ciclagem da matéria orgânica do solo. A quebra de macroagregados resulta na exposição de material orgânico do solo tornando-o sujeito a oxidação via atividade bacteriana. Em longo prazo, isso resulta na mudança da qualidade do solo, reduzindo a produtividade agrícola, aumentando o risco de erosão e ainda aumentando a emissão de dióxido de carbono (PINHEIRO et al., 2007).

A matéria orgânica do solo é um dos componentes mais importantes que atuam na formação e estabilização dos agregados, constituindo um reservatório heterogêneo de C e N. A redução da fração ativa da MOS afeta diversas funções no solo como, por exemplo, a manutenção da produção de

polissacarídeos, fundamentais ao processo de agregação (GOLCHIN et al., 1997, CHRISTENSEN, 2000, DENEFF et al., 2001).

Contudo, alguns autores defendem que em solos tropicais a forte relação entre agregação do solo e teor de matéria orgânica não existe, pois em solos ricos oxídicos, os principais agentes responsáveis pela estabilização dos agregados seriam os óxidos do solo (FERREIRA, FERNANDES, CURI, 1999; TISDAL, OADES, 1982).

A microbiota também possui papel fundamental na formação dos agregados, pela degradação da matéria orgânica, e formação de material ligante na matriz do solo. Em solos tratados com fungicidas, a formação de macroagregados foi significativamente menor do que em solos controle, mostrando a importância dos fungos no processo (DENEFF et al., 2001).

O ciclo de chuvas é um dos fatores de importância na estabilidade dos agregados principalmente nas etapas iniciais da formação dos mesmos. O processo de umedecimento e seca dos solos provoca a ruptura das estruturas dos agregados, além do aumento na ciclagem da matéria orgânica do solo, devido à solubilização e disponibilização de material orgânico anteriormente ocluso (DENEFF et al., 2001).

O aumento de densidade dos solos é um fenômeno provocado principalmente pelo colapso dos agregados do solo, e sua ocorrência é um problema amplamente encontrado nos solos tropicais (CASSEL; LAL, 1992). Existem basicamente três diferentes índices que traduzem o grau de agregação do solo, o índice de estabilidade de agregados (IEA), o diâmetro médio ponderado (DMP) e o diâmetro médio geométrico (DMG). Cada um desses índices preza por uma qualidade em específico.

O IEA representa o índice geral de agregação do solo, considerando apenas quantidade de areia, macro e microagregados, sem levar em conta a distribuição em classes de agregados. O DMP é diretamente proporcional à massa de agregados retidos nas peneiras maiores, e o DMG representa uma medida da classe de agregados com maior freqüência de ocorrência (CASTRO-FILHO; MUZILLI; PODANOSHCI, 1998).

Em um estudo realizado sob Latossolo Vermelho distrófico (Jaboticabal, SP), foram comparadas uma cronossequência de mata nativa de Cerrado e cana-de-açúcar com 1, 3 e 7 anos. Foram observadas redução do valor de DMP com a introdução e tempo de cultivo, com valores de 5,2 mm no solo sob mata, 4,5 mm na cana com 1 e 3 anos e 3,4 na área de cana com 7 anos (GÓES et al., 2005).

Outro estudo realizado em um Latossolo Vermelho distrófico e Latossolo Vermelho distroférico também em Jaboticabal (SP) em áreas cultivadas com cana a cerca de 15 anos, foi estudado o solo (0-30cm) de uma área nativa, uma com cana planta (início do cultivo), uma com cana soca no segundo ano e cana soca no quarto ano de cultivo. Verificou-se redução expressiva do teor de matéria orgânica, aumento da densidade das áreas cultivadas em relação a área de mata nativa. O DMP também sofreu influência significativa, com maiores valores na área de mata (5,5 mm), valores intermediários na área com cana planta e segundo ano (3,7 mm) e menores valores na cana soca no quarto ano (3 mm) (CENTURION et al., 2007).

Em Latossolo Vermelho eutroférico foi mensurada a variabilidade espacial da agregação e matéria orgânica do solo, em uma área de cana-de-açúcar. Os índices médios de DMG foram de 2,24 mm (0-20cm). O estudo

também mostrou que a variação espacial do DMG nas áreas seguia um padrão similar à variação espacial da matéria orgânica, mostrando a dependência da agregação com teor de matéria orgânica (SOUZA; MARQUES JÚNIOR; PEREIRA, 2004).

Albuquerque et al. (2005) estudaram a influência de diversos atributos na agregação de um Latossolos vermelho no Paraná, verificaram alta correlação do teor de carbono, alumínio e potássio com valores de DMP, e não mas não observaram correlação entre agregação e os demais valores (pH, grau de floculação, cálcio, magnésio, CTC e soma de bases).

Na região de Rio Verde foram encontrados maiores valores de agregação em sistemas de Cerrado nativo e em Pastagem (20 anos), quando comparados com sistemas plantio direto (3, 7, 10 e 15 anos) e plantio convencional (29 anos) (COSTA-JÚNIOR, 2008), evidenciando que mudanças na utilização do solo alteram diretamente a estrutura deste, principalmente nas camadas mais superficiais.

Salton et al. (2008), no Mato Grosso do Sul, avaliaram diferentes sistemas de manejo do solo e Cerrado nativo em experimentos de longa duração e encontraram o maior diâmetro médio ponderado e o maior índice de estabilidade dos agregados, nos sistemas com pastagens, seja de forma isolada ou em rotação com lavouras. Sugerindo que a formação de macroagregados parece estar relacionada à presença de raízes, que são mais abundantes sob pastagem de gramíneas.

2.4.2 Agregados do solo sob enfoque ecológico

Agregados de solos devem ser entendidos como micro-universos complexos que possuem condições físico-químicas e biológicas próprias. Do centro para a região periférica de um agregado existe um gradiente de concentração e acesso a elementos como oxigênio, água, macro e micronutrientes (MUMMEY; STAHL, 2004).

Aprofundando ainda mais o conceito, macro e micro agregados representam microambientes distintos entre si. O interior dos microagregados é um ambiente mais ocluso, oligotrófico, contendo quantidades limitantes de MO biologicamente recalcitrante, que possuem taxas de renovação muito mais baixas que encontradas em solos como um todo (SIX et al., 2002).

Em Latossolos, a estrutura de agregação do solo é fundamental no seqüestro do carbono, pois a associação do C às classes de microagregados que ficam oclusos em macroagregados é responsável pela estabilização do carbono no solo sendo responsáveis pela manutenção dos teores e estoque de C em longo prazo (DENEFF et al., 2007).

O interior dos agregados ainda representa um ambiente de difícil acesso a qualquer organismo, sendo um ambiente com baixo grau de predação. Sendo assim, bactérias que colonizam o interior de agregados estão sujeitas a uma condição bastante diferenciada em relação às bactérias que vivem fora deles (MUMMEY; STAHL, 2004). Essa proteção se estende para o âmbito físico, haja vista que macroagregados podem funcionar como locais de proteção das comunidades bacterianas aos efeitos de umedecimento e seca do solo (DENEFF et al., 2001).

A ciclagem e dinâmica do carbono do solo ocorrem de forma distinta nas diferentes classes de agregados, sendo mais acelerada nas classes de maior diâmetro e mais lenta nas classes de diâmetro inferior (NEILL et al., 1998).

Se a ciclagem de nutrientes é mais lenta nos microagregados é possível relacioná-los como ambientes que representam uma condição mais antiga do solo do qual fazem parte (MUMMEY; STAHL, 2004).

2.5 Gases de efeito estufa e sua relação com o solo

O “efeito estufa” é um processo físico natural, necessário para a manutenção da temperatura da terra. Porém, a alteração da composição química atmosférica causa variações nas concentrações dos gases causadores do mesmo, modificando o balanço de energia do sistema terra-atmosfera (MEIRELES, 1994; GHINI, 2008), ocasionando o processo conhecido como “aquecimento global”.

Os gases de efeito estufa (GEE) são assim denominados devido à propriedade de reter parcialmente a energia térmica emitida pela terra, entre eles destaca-se o vapor de água, dióxido de carbono, metano, óxido nitroso, ozônio entre outros (IIPC, 2001; GHINI, 2008).

No Brasil, entre 75 a 80% GEE emitidos para a atmosfera não é proveniente da queima de combustíveis fósseis, mas sim de práticas agrícolas não conservacionistas do solo, e de mudança do uso do solo, incluindo o desmatamento (CERRI; CERRI, 2007).

Sabe-se hoje, que o balanço dos sistemas naturais é delicado, e que forças tamponantes naturais não são suficientes para manter o equilíbrio desses sistemas (GHINI, 2008).

Se os cenários de mudanças globais previstos se confirmarem, o Brasil sofrerá grandes prejuízos econômicos do ponto de vista agrícola, pois a produção de alimentos nos trópicos deve ser altamente impactada, com elevada redução na produção (CERRI; CERRI, 2007).

Após a revolução industrial (século XVIII), um grande incremento na concentração dos gases CO₂, CH₄ e N₂O foi observado. Esse aumento foi da ordem de 31% para o CO₂, e 150% para o CH₄ e de 16% para o N₂O, o que pode parecer pouco, mas se for levado em conta que o potencial de aquecimento global (PAG) do N₂O é 296 vezes maior que do CO₂ percebe-se que uma pequena alteração em sua concentração pode causar um grande impacto no ambiente, assim como o metano, que possui o PAG 23 vezes maior que o CO₂ (IPCC, 2001; GHINI, 2008).

Os fluxos de CO₂ do solo produzidos pela respiração das raízes das plantas e também pela atividade microbiana do solo. O fluxo do gás é controlado pelo gradiente de pressão parcial entre o pCO₂ do solo e a atmosfera. Temperatura, teor de água, teor da matéria orgânica, vegetação de cobertura e manejo do solo são os principais fatores que vão influenciar os fluxos do dióxido de carbono, haja vista que esses são fundamentais no controle da atividade microbiana, respiração da raiz e difusão dos gases (WU et al., 2006, PANOSO et al., 2008, TÓTH; KOÓS; FARKAS, 2009, BRITO et al., 2009)

A dinâmica do CH₄ no solo sofre influência de diversos fatores, como nutrientes, pH e ocorrência de queimadas. Mas de uma forma geral, a direção do fluxo é determinado pela disponibilidade de oxigênio nos sítios de produção/consumo de metano. Em situação de anaerobiose ocorre a formação

de CH₄ (fluxo positivo), pela atuação de Archeas metanogênicas presentes no solo. Essa situação ocorre principalmente em solos alagados. Já em solos bem aerados, bactérias metanotróficas oxidam o metano existente no solo, resultando em dreno (fluxo negativo) do metano para o solo (CASTALDI; ERMICE; STRUMIA, 2006).

Em geral, por serem ambientes mais secos, os Cerrados brasileiros possuem potencial de dreno do metano atmosférico. Os dados de diversos estudos mostram fluxos de 1,21 a -20,22 mg m² dia⁻¹, com média calculada de -0,48 ± 0,96 mg m² dia⁻¹ para Savanas em geral (CASTALDI et al., 2006).

Os fluxos de N₂O entre a atmosfera e o solo são influenciados por diversos fatores, principalmente pela ciclagem do N no solo. Em muitos ecossistemas a fertilização nitrogenada aumenta a ciclagem do N no solo e a emissão de N₂O do solo para a atmosfera (KELLER et al., 1988).

A produção de óxido nitroso ocorre predominantemente em solos agrícolas, quando o aporte de N no solo é via fertilizante mineral ou orgânico, sendo favorecida a sua emissão em condições de pouca aeração. No mundo, oitenta por cento do óxido nitroso emitido é proveniente da atividade agropecuária (KULSHRESHTHA et al., 2000).

O fluxo de e N₂O pode ser afetado pela sazonalidade climática, pelo tipo de planta cultivada, pelo tipo do solo e pelo manejo agrícola, suprimento de O₂, conteúdo de água, temperatura, pH, matéria orgânica, presença dos resíduos e concentração de N mineral no solo (SIQUEIRA NETO, 2006; SIQUEIRA NETO, 2004; SMITH; DOBBIE, 2001; DAVIDSON et al., 2001, CASTALDI; ERMICE; STRUMIA, 2006).

Em geral, baixos fluxos de N_2O são observados em Cerrados, principalmente pela baixa disponibilidade de N inorgânico (CASTALDI; ERMICE; STRUMIA, 2006).

Davidson et al. (2001) mostraram que as emissões de N_2O no Cerrado próximos à Brasília em Latossolos vermelho-escuro e vermelho-amarelo foram abaixo do limite de detecção do sistema de cromatografia gasosa utilizado. E discutiram que em geral, baixas emissões são observadas em Cerrados bem drenados, tanto pela condição predominantemente aeróbica quanto pelas queimadas constantes, que promoveram uma baixa disponibilidade de N.

Varela et al. (2004) estudaram uma área (Brasília, DF) de Cerrado nativo e uma área com pastagem (20 anos de estabelecimento) sob Latossolo, encontrando fluxos de N_2O abaixo do limite de detecção e fluxos de CO_2 com variações sazonais, mais baixos na época de seca ($2000 \text{ mg C-CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$) e mais altos na época chuvosa ($3000 \text{ mg C-CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ pastagem e $4000 \text{ mg C-CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ Cerrado).

Um artigo de revisão mostra que os fluxos de óxido nitroso em solos de Cerrado brasileiro variam de $-0,07$ a $1,96 \text{ mg m}^2 \text{ dia}^{-1}$ (CASTALDI; ERMICE; STRUMIA, 2006).

Pouco se sabe sobre a emissão de GEE em plantios de cana-de-açúcar, principalmente em relação ao CH_4 e N_2O , mas a queima de resíduos agrícolas é uma importante fonte de CH_4 e a queima para a colheita é um processo comum no manejo da cultura no país. Além disso, a cana recebe grandes quantidades de fertilizantes, e em geral, 1% do fertilizante nitrogenado utilizado no solo é emitido na forma de N_2O (SOARES, 2008).

Em áreas de cana-de-açúcar, não existe consenso sobre o efeito da queima da cana assim como sobre a influência de fatores como temperatura e umidade nos fluxos de GEE provenientes do solo (CAMPOS, 2003; La SCALA JUNIOR; BOLONHESE; PEREIRA, 2006; PANOSO et al., 2008).

Em Latossolos vermelho de textura muito argilosa, de Guariba (SP) foram encontradas diferenças significativas entre os fluxos de CO_2 das áreas com queima e sem queima (mais de 30 anos de cultivo). A primeira apresentou os maiores fluxos, com média aproximada de $2100 \text{ mg m}^2 \text{ dia}^{-1}$, e a segunda os menores fluxos, cerca de $1800 \text{ mg m}^2 \text{ dia}^{-1}$ (PANOSO et al., 2008).

Já em outro Latossolo, na região de Ribeirão Preto (SP), não foram encontradas diferenças significativas entre as áreas de cana crua e cana queimada, cujos fluxos de CO_2 foram de 3000 e $3360 \text{ mg m}^2 \text{ dia}^{-1}$ respectivamente. Nesse mesmo estudo, foram mensurados também os fluxos de CH_4 que apresentaram valores muito baixos, entre $1,4$ e $4,0 \text{ mg m}^2 \text{ dia}^{-1}$ e de N_2O com $2 \text{ mg m}^2 \text{ dia}^{-1}$ (CAMPOS, 2003).

Um terceiro estudo sob cana-de-açúcar, também na região de Ribeirão Preto, em Latossolo vermelho argiloso, estudou a relação do fluxo de CO_2 com o manejo do solo. Foram comparadas áreas de plantio direto, cultivo mínimo e plantio convencional, ao longo de 27 dias logo a partir do cultivo das áreas. Foram encontrados fluxos bem altos para todas as três áreas, em geral, com diferenças significativas entre as áreas de plantio direto que apresentaram menores fluxos médios ($19000 \text{ mg m}^2 \text{ dia}^{-1}$) e de plantio convencional, que apresentou os maiores fluxos médios ($46000 \text{ mg m}^2 \text{ dia}^{-1}$). A área de cultivo mínimo apresentou valores médios de $32000 \text{ mg m}^2 \text{ dia}^{-1}$, que em geral foram estatisticamente iguais aos dois tratamentos. Curiosamente, foi verificada

influência da temperatura e da umidade nas áreas de plantio convencional e direto, mas não na área de cultivo mínimo. O autor conclui que esses fatores possuem influência quando se apresentam como valores limitantes (baixos demais em relação à umidade ou altos demais em relação à temperatura), e que não exercem influência a partir de uma situação mais equilibrada (La SCALA JÚNIOR; BOLONHESI, PEREIRA, 2006).

Brito et al. (2009) estudaram ao longo de um ano, a variação espacial dos fluxos de CO₂ do solo (Latosolo Vermelho) em relação à topografia, temperatura e umidade de uma área de cana-de-açúcar (60 anos com queima, seguida de 10 sem queima), em Jaboticabal (SP). Foram mensurados os maiores fluxos nos meses quentes e os menores nos meses frios, encontraram variações no fluxo em relação à topografia, mas sem um padrão consistente, e mostraram forte correlação do fluxo em função da temperatura e teor de água dos solos.

A divergência de dados evidencia a necessidade de maiores estudos, principalmente nas novas áreas de ocupação de cana-de-açúcar.

2.6 Microbiota do solo e seu estudo através da técnica de DGGE

Os microrganismos vivem em grande abundância em ambientes naturais, e formam comunidades complexas nas quais podem ser observados diversos tipos de relações inter e intra-específicas.

O entendimento da diversidade microbiana do solo e dos processos ambientais que ela controla, requer o conhecimento profundo de como a diversidade microbiana influencia e é influenciada pelo meio ambiente (MUMMEY et al., 2006).

A microbiota do solo no papel de decompositor é a base de uma complexa teia alimentar que liga todo o ecossistema terrestre, sendo responsáveis pela ciclagem dos nutrientes e manutenção da fertilidade dos solos (VALPASSOS et al., 2001).

A mineralização da MOS é mediada pelos processos microbianos, através da atuação de enzimas intra e extracelulares, e a disponibilização de nutrientes para plantas é bastante dependente da biomassa e atividade microbiana. Portanto, alterações na estrutura da comunidade microbiana podem levar a mudanças em importantes funções como a decomposição da matéria orgânica entre outras (HOLT; MAYER, 1998; VALPASSOS et al., 2001).

As alterações podem ainda ser muito mais drásticas em processos específicos como a fixação do nitrogênio ou o processo de nitrificação, haja vista que esse tipo de processo é dependente da atividade grupos de microrganismos bem definidos e restritos, que não podem ser substituídos por um grupo qualquer que se adéque às novas condições do ambiente (GHINI, 2008).

A integridade da capacidade metabólica microbiana do solo é um requerimento fundamental de qualquer conceito de proteção, biorremediação e cultivo contínuo do solo, entendendo por atividade microbiana todas as reações bioquímicas catalisadas por microrganismos no solo (ALEF; NANNIPIERI, 1995).

Para entender um ecossistema é fundamental conhecer a diversidade, distribuição e a estrutura da comunidade microbiana (ØVEREÅS, 1997). O monitoramento de comunidades microbiológicas por técnicas dependentes de

cultivo em laboratório é importante, mas apresenta muitas limitações acessando apenas uma pequena parte da diversidade existente (AMANN et al., 1995).

Bactérias nitrificantes e desnitrificantes são organismos chave na ciclagem do nitrogênio e seu estudo é difícil por meio da utilização de métodos convencionais. Isso ocorre principalmente porque bactérias nitrificantes possuem crescimento lento e os métodos de cultivos empregados resultam na seleção de poucas linhagens adaptadas a nova condição. A seleção de poucas linhagens também é um problema no estudo das bactérias desnitrificantes, pois são compostas por grupos polifiléticos bem distintos, que requerem diferentes condições de crescimento (KOWALCHUK; STEPHEN, 2001; PHILIPPOT; HALLIN, 2005).

Aproximadamente 9.500 espécies de procariotos já foram descritas ao longo dos anos. No entanto, por meio de técnicas moleculares, sabe-se que isso representa apenas cerca de 1 a 10% da biodiversidade existente no planeta (THOMPSON et al., 2005).

Como alternativa, existem hoje diversos métodos moleculares disponíveis para o estudo de comunidades microbianas independentes de cultivo. Eles se baseiam principalmente em técnicas que utilizam a manipulação dos ácidos nucleicos, seja o DNA ou o RNA extraídos diretamente de amostra ambiental (solo, água, liteira, lodo ativado), entre os quais se pode citar o DGGE, Microarray, Sequenciamento e Real-Time PCR entre outros (MUYZER, 1993; HE, et al., 2007; CARDENAS; TIEDJE, 2008).

A técnica de DGGE (eletroforese em gel com gradiente de desnaturação), desenvolvida por Muyzer (1993), permite a separação de

fragmentos de DNA de mesmo tamanho de acordo com o teor de C+G presentes em cada fragmento. O princípio da técnica se baseia na mobilidade diferencial das moléculas de DNA em um gel de poliacrilamida com gradiente de desnaturação. As moléculas vão migrando uniformemente ao longo do gel, até que a concentração de desnaturante seja suficiente para separar a dupla fita do DNA de cada fragmento, cessando, nesse instante a migração praticamente. Diferentes teores de G+C na dupla fita vão resultar em diferentes pontos de desnaturação, conseguindo dessa forma, separar fitas de mesmo tamanho apenas pela diferença no conteúdo de bases.

Associando a técnica do DGGE com a técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase) é possível selecionar e amplificar fragmentos do DNA de organismos específicos, como bactérias nitrificantes, de um *pool* de DNA contendo material genético de diferentes organismos. O DNA amplificado é separado de acordo com as constituições de G+C dos diversos fragmentos, construindo assim um perfil de bandas que representam a impressão digital da comunidade microbiana específica de cada ambiente. Mudanças na estrutura da comunidade são refletidas no perfil de bandas obtido através do DGGE.

O DGGE tem sido empregado com sucesso para a avaliação da comunidade de bactérias totais, nitrificantes e desnitrificantes, e se mostra uma técnica bastante sensível, com alto poder de detecção das alterações nas estruturas das comunidades microbianas (KOWALCHUK et al., 1998; BOTHE et al., 2000; NICOLAISEN; RAMSING, 2002; ENWALL; HALLIN 2008).

Muitos autores utilizam o DGGE como mecanismo na avaliação do perfil microbiológico e no monitoramento das oscilações temporais ou espaciais na constituição das comunidades (MUYZER; WALL; UITTERLINDEN, 1993,

ØVEREÅS, 1997, EICHNER et al., 1999, IWAMOTO et al., 2000, MARYHOFER et al., 2006, MORAES; TRIVELIN; LAMBAIS, 2007, ABOIM et al., 2008).

Uma área em Pirassununga (SP), de cana crua (1 ano e meio) foi estudada em relação à resposta da estrutura da comunidade microbiana em função de diferentes doses de nitrogênio (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹). Não foi verificada diferenças na biomassa microbiana, no entanto, a análise de PCA do perfil de bandas do DGGE da comunidade de bactérias, separou as amostras de acordo com a dose de nitrogênio, com exceção da área sem adubação que ficou difusa na ordenação, mostrando que a comunidade microbiana reagiu à interferência antrópica. A análise de PCA mostrou ainda a influência da variação de alguns micronutrientes na segregação das comunidades bacterianas (MORAES, TRIVELIN, LAMBAIS, 2007).

Aboim et al. (2008) estudaram as mudanças na comunidade microbiana do solo em Cambissolo arenoso (0-5 cm) correlacionando-a com os fatores físico-químicos, em área de Mata Atlântica, no município de Bom Jardim (RJ) cultivada por setenta anos em sistema de agricultura familiar de colheita seguida de queima, com sucessão de culturas com 3 anos de rotação, seguidos por 5 anos de pousio. Os tratamentos estudados compreendiam em sucessões da culturas agrícolas inhame (1° ano), inhame (2° ano), milho (3° ano), áreas de pousio (1°, 3° e 5° ano) e floresta nativa (15, 30 e > 70 anos). Nesse trabalho foi observado um forte influência da utilização do solo para fins agrícolas, com formação de blocos de agrupamento com clara distinção das áreas com floresta nativa das áreas de cultivo, e tendência de aproximação das áreas em pousio das áreas de floresta. Ainda foi verificada, pela análise de

PCA, a influência dos fatores físico-químicos, que mostram uma correlação das mudanças nos parâmetros com as mudanças observadas.

Tagliaferro (2005) estudou a diversidade microbiana no solo de Cerrado, comparando o sistema natural com pastagem por meio da construção de uma biblioteca genômica, e demonstrou uma biodiversidade microbiana muito alta no solo do Cerrado. Encontrou grande número de microrganismos não-cultiváveis ou não conhecidos, maior quantidade deles no Cerrado natural. Em análise filogenética, a diversidade bacteriana do Cerrado e pastagem foram similares em nível de filos, mas diferentes em gêneros e espécies, revelando maior diversidade no Cerrado natural, sugerindo uma maior pressão seletiva atuando no ambiente cultivado.

Holt e Mayer (1998) observaram que áreas de cana antigas (mais de 30 anos) em geral apresentavam valores de biomassa microbiana significativamente menores quando comparados a áreas novas. Sugerindo que a monocultura de cana-de-açúcar tende a provocar um declínio na microbiota do solo, em longo prazo.

3 OBJETIVOS

3.1 *Objetivo geral*

Avaliar os impactos da introdução e manejo agrícola da cana-de-açúcar com e sem queima sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas em solo de Cerrado ,e verificar a relação delas com a estrutura da comunidade de bactérias totais, nitrificantes e desnitrificantes.

3.2 *Objetivos específicos*

- ✓ Caracterizar os solos quanto a sua morfologia e fertilidade;
- ✓ Determinar a umidade, densidade e temperatura dos solos;
- ✓ Caracterizar o estado de agregação do solo nos diferentes sistemas de manejos;
- ✓ Quantificar os teores e estoques de C e N totais nos solos;
- ✓ Calcular os estoques de C e N nos solos;
- ✓ Determinar os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos solos;
- ✓ Quantificar os teores de amônio e nitrato dos solos;
- ✓ Determinar as taxas líquidas de mineralização e nitrificação do N dos solos;
- ✓ Determinar o potencial de desnitrificação dos solos;
- ✓ Determinar os fluxos de dióxido de carbono, metano e óxido nitroso, provenientes do solo nos tratamentos;
- ✓ Determinar a variação espacial nos fluxos de dióxido de carbono, metano e óxido nitroso, em relação à distância da linha de plantio;
- ✓ Avaliar a estrutura da microbiota nitrificadora e desnitrificadora e geral do solo por meio da técnica de DGGE;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

As atividades de campo foram desenvolvidas no município de Porteirão (GO), enquanto as atividades de laboratório e demais análises foram realizadas nos Laboratório de Ciclagem de Nutrientes e Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da USP (Piracicaba-SP), no Laboratório de Análise de Solos, Água e Planta (LASP) da Embrapa Solos (Rio de Janeiro, RJ) e também no Laboratório de Ecologia Molecular Microbiana da UFRJ (Rio de Janeiro, RJ).

4.1 Localização e descrição das áreas

As áreas amostradas estão localizadas no município de Porteirão (GO), (17° 48' 54" S 50° 09' 50" O). O clima da região é do tipo Aw (Köppen), tropical com chuvas concentradas no verão (outubro a abril) e um período seco bem definido durante a estação de inverno (maio a setembro), quando ocorre na região um moderado déficit hídrico. A temperatura média do ar no mês mais frio é superior a 18°C (megatérmico). A média anual da precipitação pluviométrica é superior a 1500 mm ano⁻¹ e a média anual da temperatura do ar é de 23,1°C.

O solo é do tipo Latossolos Vermelho eutrófico, ou seja, com saturação de bases elevada (>50%) por se tratar de uma região de solos derivados de basalto. Embora a topografia da área seja aparentemente plana, em sub superfície foi encontrada presença de petroplintita (nódulos e concreções lateríticas) que evidenciam restrição a drenagem na área e caráter concrecionário (OLIVEIRA et al., 2001). Em alguns pontos da área sob Cerrado essas concreções foram vista em superfície.

Foram escolhidas duas áreas que durante muitos anos foram utilizada basicamente pra cultivo de algodão, soja e girassol e a cerca de 10 anos estão sendo utilizadas para cultivo de cana-de-açúcar (Figura 7). As áreas são constituídas de Latossolos vermelhos e estão localizados na Fazenda Itamaraty (17° 55' 35" S 50° 08' 36" O), pertencente à Usina Vale do Verdão S.A.

Das áreas escolhidas, uma está sendo manejada com colheita manual e histórico de queima contínua, denominado Cana Queimada, e outra com colheita mecânica, sem queima há três anos, cuja palhada se acumulava em maior quantidade, a qual foi denominada Cana Crua. As duas áreas tiveram o plantio da cana planta com a variedade RB 83 5486 em março de 2002, e no momento da amostragem estavam no sexto corte. A área com cana crua é um talhão de 9,9 ha, enquanto a área de cana queimada possui 23,56 ha.

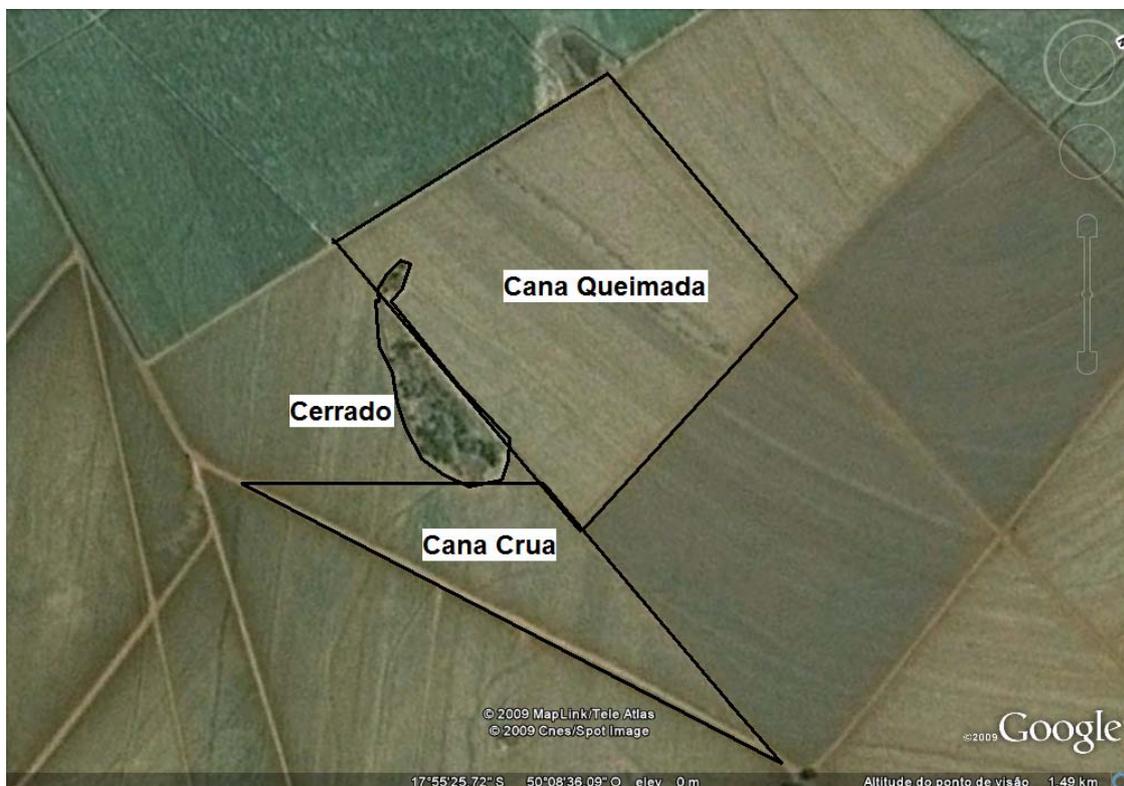


Figura 7 – Fotografia por satélite das três áreas utilizadas no experimento (ponto de visão aproximadamente 1,5 km. A data da fotografia não equivale à data da coleta) (Fonte: GoogleEarth 5.1.3533.1731)

Foi ainda escolhida uma área de Cerrado nativo, contígua às áreas de cana (Figura 7) que foi utilizada para fins de comparação. O Cerrado nativo é um pequeno fragmento de Cerradão e apresenta vegetação arbusto-arbórea.

A caracterização da fertilidade e granulometria das três áreas estão apresentadas nas Tabelas 2 e 3 a seguir.

Tabela 2 – Caracterização da fertilidade dos solos sob Cerrado, Cana Crua e Cana Queimada. (0-30 cm)

	Camada	pH	Al	Ca	Mg	Na	K	H+Al	P	S	T	V
		H ₂ O 1:2,5		cmol _c dm ⁻³			mg dm ⁻³		cmol _c dm ⁻³			%
Cana Crua	0-10	5,9	0	5,9	1,6	1,7	598,0	5,6	13,0	9,1	14,7	60,7
	10-20	6,3	0	6,7	1,5	0,0	317,0	4,2	11,8	9,1	13,3	66,0
	20-30	6,5	0	6,4	1,3	1,7	124,7	3,1	3,2	8,0	11,1	69,7
Cana Queimada	0-10	5,8	0	4,6	1,5	3,0	314,7	5,4	27,5	6,9	12,3	56,3
	10-20	6,0	0	5,4	1,4	2,3	126,0	4,1	23,7	7,2	11,3	64,7
	20-30	6,0	0	3,6	1,3	2,3	66,3	3,7	8,1	5,1	8,8	56,7
Cerrado	0-10	6,6	0	11,4	3,9	2,2	306,6	4,8	102,3	16,1	20,9	77,2
	10-20	6,3	0	10,0	2,6	5,0	211,0	4,8	7,1	13,2	17,9	73,0
	20-30	6,0	0	6,4	2,6	5,0	207,0	5,8	8,3	9,5	15,3	62,0

Tabela 3 – Valores médios (n=5) de areia, silte e argila (g kg⁻¹) dos três tratamentos.

Tratamento	Areia	Silte	Argila
Cerrado	250	430	320
Cana Crua	280	340	380
Cana Queimada	212	308	480

4.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental empregado na coleta das amostras foi o inteiramente casualizado. Os tratamentos estudados foram:

- ✓ Cana Crua (10 anos de cultivo de cana (*Saccharum sp. L.*), 3 anos sem queima da lavoura antes da colheita);
- ✓ Cana Queimada (10 anos de cultivo de cana (*Saccharum sp. L.*) com queima da lavoura antes da colheita);
- ✓ Cerrado nativo (Pequeno fragmento contíguo às áreas);

4.3 Coleta das amostras de solo para as análises químicas, físicas e biológicas.

Todas as coletas foram feitas no mês de novembro de 2008. A caracterização da fertilidade do solo foi feita em três repetições por tratamento, abrindo-se trincheiras de 1m x 1m x 0,3 m no solo.

Para as demais quantificações foram coletadas amostras indeformadas, com cinco repetições. As amostragens foram realizadas na camada 0-10 cm do perfil do solo, sendo estas coletadas na forma de monólitos (aproximadamente 10 x 10 x 20 cm; A x L x C), para obtenção das amostras compostas (5 repetições).

As amostras para a quantificação do N mineral do solo foram preparadas e as extração com KCl realizadas no mesmo dia da coleta.

As análises de diversidade bacteriana as amostras foram cuidadosamente homogeneizadas em bandejas, para a montagem das amostras compostas por cinco amostras simples. No entanto apenas três foram

utilizadas nas análises moleculares, pois os resultados preliminares mostra um mesmo padrão entre as repetições de um mesmo tratamento.

Alguns autores reportaram a importância da estratificação das amostras para uma análise mais eficiente do DNA total (HOLBEN et al., 2003; MUMMEY; STAHL, 2004; MUMMEY et al., 2006). Portanto, para uma melhor extração do DNA total dos solos, os mesmos foram separados em classes de agregados, por via seca, com auxílio de um agitador eletro-magnético (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda.) por 15 minutos na frequência número 3, em: macro-agregados grandes ($4\text{mm} > x > 2\text{mm}$), macro-agregados ($2\text{mm} < x < 0,250\text{mm}$) e micro-agregados ($0,250\text{mm} < x < 0,053\text{mm}$). As diferentes classes de agregados foram colocadas em tubos de centrifuga de 50 ml e armazenadas em freezer ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) até o momento da extração de DNA. Após a extração, o DNA das três classes de agregados de um mesmo ponto foi misturado, compondo então o pool de DNA total do solo de cada ponto.

4.4 Classificação pedológica e caracterização da fertilidade dos solos

A caracterização pedológica dos tratamentos foi definida por características morfogenéticas seguindo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 1999). Para caracterização da fertilidade foram amostradas sistematicamente as camadas 0-10; 10-20; 20-30 cm do perfil do solo. Para cada uma das camadas, foram apresentados os valores médios de atributos químicos (pH, Al, Ca, Mg, Na, K, H+Al, P, S, T, V). As determinações foram realizadas de acordo com os métodos descritos por Camargo et al. (1986).

A densidade global (dg) do solo, empregada nos cálculos dos estoques de C e N total do solo, foi determinada em amostra indeformada, coletada através de anel de aço inox (5 x 5 cm diâmetro e altura) para a camada 0-10cm do solo. A granulometria foi avaliada após dispersão química, empregando-se o método do densímetro (EMBRAPA, 1997). Todas essas análises foram realizadas nos laboratórios da Embrapa Solos (Rio de Janeiro, RJ).

A densidade de partícula foi calculada de acordo com Linn e Doran, (1984), pesando-se aproximadamente 30g de solo seco, colocando dentro de um balão volumétrico de 100 ml e pesando-o com o auxílio de uma balança de precisão, de acordo com a seguinte fórmula:

$$DP = M1 (M3 + M1 - M2)^{-1} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde: M1 = Massa de solo seco (g)
M2 = Massa do balão com água + solo (g)
M3 = Massa do balão só com água (g)

A porosidade do solo foi calculada de acordo com Kiehl (1979) por meio da seguinte equação:

$$P (\%) = 100 (DP - DS) DP^{-1} \quad \text{Equação (2)}$$

Onde: P = Porosidade do solo (%)
DP = Densidade de partícula (g cm⁻³)
DS = Densidade do solo (g cm⁻³)

E o espaço poroso preenchido por água (EPPA) foi calculado de acordo com Linn e Doran (1984) segundo a equação:

$$EPPA \% = 100 U(\%) DS P(\%)^{-1} \quad \text{Equação (3)}$$

Onde: EPPA = Espaço poroso preenchido por água (%).
U = Umidade do solo (%)
DS = Densidade do solo (g cm⁻³)
P = Porosidade do solo (%)

4.5 Estabilidade estrutural dos agregados por via seca

A distribuição das classes de agregados foi realizada de acordo com o Manual de Métodos de Análise de Solos (EMBRAPA, 1997). Para cada tratamento, cinco repetições, em duplicatas, constituídas de 100g foram utilizadas para o tamisamento. A amostra de solo foi colocada na parte superior de um jogo de peneiras redondas com malhas aberturas de 2 mm, 1 mm, 0,5 mm, 0,25 mm e 0,125 mm. As peneiras foram fixadas em um agitador eletro-magnético da (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda.) e submetidas à vibração pelo tempo de 15 minutos no nível 3 de vibração. Após o tamisamento as frações retidas em cada peneira foram colocadas em placas identificadas e secas à estufa à 105°C pelo período de 48h. Após o processo, cada placa foi levada a balança para a determinação do da massa seca.

4.6 Estado de agregação

O estado de agregação das amostras de solo foi avaliado pelo índice de diâmetro médio ponderado (DMP), diâmetro médio geométrico (DMG) (KEMPER; ROSENAU, 1986), e pelo índice de estabilidade de agregados (IEA), (CASTRO FILHO; MUZZILI; PODANOSCHI, 1998).

$$DMP = \sum (C \times p) \quad \text{Equação (4)}$$

Onde: C é o centro das classes de agregados (mm)

P = a proporção do peso de cada fração de agregados em relação ao total da amostra.

$$DMG = 10^X \quad \text{Equação (5)}$$

$$X = [\sum (p \log d) / \sum p] \quad \text{Equação (6)}$$

Onde: p = massa dos agregados retidos em determinada peneira (g);

d = diâmetro médio de determinada faixa de tamanho do agregado (mm).

$$\text{IEA} = 100(\text{Ms} - \text{wp}_{0,25} - \text{Areia}) / (\text{Ms} - \text{Areia}) \quad \text{Equação(7)}$$

Onde: Ms = massa seca (g) da amostra
 wp_{0,25} = Massa (g) de agregados menores que 0,25 mm
 Areia = Massa (g) de areia na amostra

4.7 Teores e caracterização isotópica do C e N do solo

As análises para determinação dos teores de C e N total e variação isotópica ¹³C/¹²C e ¹⁵N/¹⁴N do solo foram realizadas com o auxílio do um analisador elementar acoplado a um espectrômetro de massa Carlo Erba/Delta Plus, no Laboratório de Ecologia Isotópica (CENA-USP) em Piracicaba (SP). Os resultados foram expressos na forma de δ¹³C (‰) em relação ao padrão internacional PDB e δ¹⁵N (‰) em relação ao N atmosférico.

4.8 Estoques de carbono e nitrogênio do solo

Os estoques de C e N do solo foram calculados com os teores totais de C e N e densidade do solo de acordo com a equação (8).

$$E = d_g \times h \times (\text{C ou N}) \quad \text{Equação (8)}$$

Onde: E = estoque de carbono ou nitrogênio total do solo (Mg ha⁻¹)
 d_g = densidade global do solo
 h = espessura da camada amostrada
 (C ou N) = teor de carbono ou nitrogênio total do solo.

4.9 Teores de amônio e nitrato, e taxas líquidas de mineralização e de nitrificação do nitrogênio do solo

O nitrogênio mineral foi obtido por extração com KCl (2N) por 24h e filtragem com filtros Watman 42, para o tempo 0 e após 7 dias de incubação das amostras (NEILL et al., 1995). Ao filtrado foi adicionado 0,1 ml fenil acetato de mercúrio para conservar as amostras. No extrato, as concentrações de

amônio (NH_4^+) e de nitrato (NO_3^-) foram determinadas pelo sistema automático de injeção de fluxo contínuo (FIA) acoplado a um espectrofotômetro e a um condutivímetro, respectivamente (RUZICKA; HANSEN, 1981). O NH_4^+ foi quantificado colorimetricamente pelo método Solorzano e o NO_3^- obtido por condutivimetria na forma de NO_2^- , após a redução com um catalisador a base de cádmio. A taxa líquida de mineralização foi calculada pela diferença entre $\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-$ no final e no início da incubação (7 dias). A taxa líquida de nitrificação equivale à concentração de NO_3^- final menos a inicial nos tempos 0 e 7 dias.

4.10 Fluxos de gases do efeito estufa provenientes do solo

Foram coletadas, para as análises dos fluxos de gases, amostras com uso de câmaras estáticas (30 cm de diâmetro e aproximadamente 11 dm³ de volume). As câmaras são compostas por duas partes feitas de PVC, uma base que foi fixada no solo a aproximadamente 3 cm de profundidade e uma tampa com dois orifícios com tubos. Um orifício com válvula por onde foi efetuada a amostragem dos gases, e o outro com tubo interno que possui a função de equalizar a pressões interna da câmara com o ambiente externo (HUTCHINSON; MOSIER, 1981). Em cada um dos tratamentos foram instaladas seis câmaras com espaçamento de aproximadamente 3 metros conservando-se a cobertura do solo (resíduos culturais). Nas áreas de cana, foram colocados 2 câmaras sobre as linhas de plantio, duas nas entrelinhas (a 0,225 m) e duas na região intermediária da linha e entre linha (0,45 m). As amostras de gases provenientes do solo foram coletadas em seringas de nylon de 50 mL da marca BD, em intervalos de tempo pré-estabelecidos (01, 10, 20 e

30 minutos). Antes de cada amostragem foi realizada a leitura da pressão atmosférica e antes e depois de cada amostragem foi realizadas as determinações das temperaturas do ar (externa e interna da câmara) e do perfil do solo (2,0; 5,0 e 10,0 cm) e também a análise da umidade do solo (0-10 cm). O gás coletado foi transferido imediatamente para frascos de penicilina vedados e previamente evacuados para armazenamento e análise posterior. O tempo de armazenamento dos gases nos tubos foi testado previamente através de experimento em laboratório, sendo definido o tempo de 18 dias.

O equipamento utilizado para as análises foi o cromatógrafo Shimadzu GC-17A, com duas linhas de análise diferentes com as seguintes configurações:

Análises de CH₄ e CO₂: volta de 1 mL da amostra, válvula de 12 portas, gás de arraste N₂ (fluxo 25ml min⁻¹), coluna de análise Porapak Q 2m e 1/8", temperatura de análise 70°C, detector de ionização de chama (FID) a 250°C e metanizador (mantido a 380°C em forno externo) para a conversão do CO₂ em CH₄ para a detecção pelo FID.

Análises de N₂O: alça de 1ml da amostra, válvula de 12 portas, gás de arraste Ar / 5% CH₄ (fluxo válvula 3: 31ml min⁻¹, válvula 6: 41ml min⁻¹), coluna de análise Haysep Q 3m e 1/8", temperatura de análise 70°C e detector de captura eletrônica (ECD) a 320°C.

A calibração do equipamento foi feita com padrões White-Martins (Tabela 4).

Tabela 4 – Concentração dos padrões de metano, dióxido de carbono e óxido nitroso utilizados nas análises das concentrações dos gases nas amostras, (ppm)

	Metano	Dióxido de Carbono	Óxido Nitroso
	ppm		
Padrão 1	1,1	302	0,090
Padrão 2	54,5	2547	0,296
Padrão 3	152,8	6016	0,627
Padrão 4	499,5	15090	1,034

Os fluxos dos gases foram calculados pela alteração linear da concentração dos gases com o tempo de incubação no interior da câmara. A equação (9) geral do cálculo do fluxo dos gases pode ser definida como:

$$\text{Fluxo} = (\Delta[\text{gás}] \text{ t}^{-1}) \times (\text{n câmara}) \times (\text{MM}) \times (\text{A}^{-1}) \times 10^{-3} \quad \text{Equação (9)}$$

$$(\text{n câmara}) = P V R^{-1} T^{-1} \quad \text{Equação (10)}$$

Onde: (Fluxo = Fluxo do gás ($\text{mg m}^2 \text{ dia}^{-1}$))

($\Delta[\text{gás}] \text{ t}^{-1}$) = Variação da concentração do gás (em ppm) em função do tempo de intervalo das amostras (em dias).

(n câmara) = número de mols de gás presente na câmara.

A = Área da câmara (m^2)

P = Pressão atmosférica (atm)

V = Volume da câmara (L)

R = Constante universal dos gases 0,082.

T = Temperatura do interior da câmara (Kelvin).

4.11 Ensaio de desnitrificação potencial

A medida do potencial de desnitrificação com amostras de solo dos três tratamentos foram realizados como descrito Smith e Tiedje (1978). Cinquenta gramas de amostra de solo fresco foram incubados em frascos de vidro de volumes conhecidos 1800 ml, hermeticamente fechados, acrescidos de solução nutritiva de NO_3^- (100 mg N kg^{-1}), dextrose (40 mg kg^{-1}) e clorafenicol (10 mg kg^{-1}). A atmosfera de dentro do frasco foi substituída por nitrogênio puro e adicionada de acetileno, em aproximadamente 10% do volume. Foram

retiradas amostras de gás nos tempos 0, 30, 70 e 90 minutos. Os ensaios foram feitos em duplicata para o tratamento cana crua e branco, e triplicata para o tratamento Cerrado e cana queimada. A concentração do N₂O nas amostras foi quantificado por cromatografia gasosa, como no item anterior e os cálculos de acordo com a Equação 9.

4.12 Análises moleculares microbianas

A extração do DNA foi feita com a utilização do kit de extração de DNA total do solo FastDNA® Spin kit for Soil (Bio 101, CA, EUA), com o auxílio do equipamento FatPrep®, de acordo com as normas do equipamento.

Para a avaliação da diversidade de bactérias totais foi utilizado um par de primers universal para Eubactéria que codifica para uma região da subunidade do operon de rDNA 16S. Já para estudo dos grupos de bactérias nitrificantes e desnitrificantes foram utilizados respectivamente iniciadores que codificam para os genes funcionais nirK e amoA (Tabela 5). Todas as análises foram feitas em triplicata.

Um grampo rico em bases CG foi adicionado á extremidade de um primer de cada par para melhorar o comportamento desnaturante dos fragmentos amplificados (MYERS et al., 1985).

Tabela 5 – Iniciadores utilizados no trabalho, com seus respectivos grupos alvo e sequências

Grupo Alvo	Primers	Sequência (5'- 3')	Referência
Eubactéria	U968-GC	5'- CGC CCG GGG CGC GCC CCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GAA CGC GAA GAA CCT TAC – 3'	Zoetendal et. al. (1998)
	L1401	5' - GCG TGT GTA CAA GAC CC – 3'	
Nitrificantes	AmoA1F-Clamp	5'- CGC CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCG GGG TTT CTA CTG GTG GT – 3'	Nicolaisen and Ramsing (2002)
	AmoA-2R-TC	5' – CCC CTC GCA AAG CCT TCT TC – 3'	
Denitrificantes	F1aCu	5' - ATC ATG GTS CTG CCG CG - 3'	Throbäch et. al. (2004)
	R3CuGC	5'- GGC GGC GCG CCG CCC GCC CCG CCC CCG TCG CCC GCC TCG ATC AGR TTG TGG TT – 3'	

Em negrito o grampo rico em GC adicionado ao primer.

O produto de PCR para as Eubactérias foi obtido com uma desnaturação inicial do DNA a 94 °C por 4 min, seguido por 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 55 °C, 2 min a 72 °C e um ciclo de extensão final de 10 min a 72 °C.

O produto de PCR para as bactérias nitrificantes foi obtido com uma desnaturação inicial do DNA a 94 °C por 3 min, seguido por 35 ciclos de 30 s a 94 °C, 1 min a 57 °C, 1 min a 72 °C e um ciclo de extensão final de 10 min a 72 °C.

O produto de PCR para as bactérias desnitrificantes foi obtido com uma desnaturação inicial do DNA a 94 °C por 3 min, seguido por 5 ciclos de 30 s a 94 °C, 1 min a 60 °C, 1 min a 72 °C; 30 ciclos de 30 s a 94 °C, 1 min a 62 °C, 1 min a 72 °C e um extensão final de 10 min a 72 °C.

Os fragmentos amplificados foram separados pela técnica de DGGE (MUYZER et al., 1993), com a utilização do equipamento Dcode™ Universal Mutation Detection System (Bio-Raid, Richmond, EUA), em géis de poliacrilamida (6%) preparados com a mistura de acrilamida/bisacrilamida na proporção 37.5:1 (m:m) em tampão TAE 1X (10 mM tris-acetato, 0,5 mM EDTA

pH 8,0), com gradiente de 30 a 60% para Eubactérias, de 40 a 70% para nitrificantes e de 55 a 70 para desnitrificantes.

Aproximadamente 30 µl do produto de PCR foi aplicado em cada slot do gel. A eletroforese foi desenvolvida com 75V a 60°C por 16 horas. Após a corrida os géis foram corados com SybrGreen® (Molecular Probes, Oregon, EUA) e escaneados com o scanner Storm® (GE Healthcare).

4.13 Análises estatísticas dos dados

Todos os dados foram testados em relação à normalidade e homocedasticidade. Quando essas condições foram respeitadas foi executada a análise de variância seguida do teste de Tukey para diferenciação de médias (ao nível de 5% de probabilidade) nos casos de diferenças significativas. Os dados que não cumpriram uma das duas condições acima, mesmo após transformações, foram submetidos aos testes não paramétricos Kruskal-Wallis Anova & Median Test seguidos do teste Komolgorov-Smirnov dois a dois para diferenciação de médias nos casos de diferenças significativas. Todos os testes serão feitos com a utilização do programa STATISTICA 7 (StatSoft).

Para as análises das estruturas das comunidades microbianas e das interações destas com os fatores abióticos foram feitas utilizadas análises multivariadas com o auxílio PC-ORD statistical package V5 (MjM Software, Gleneden Beach, OR).

Matrizes com as propriedades físico-químicas e microbiológicas foram montadas para a construção das ordenações. As matrizes das propriedades físico-químicas foram feitas com os dados do solo (0-10 cm) em 3 repetições, e não com as 5 repetições, pelo fato de ter sido utilizado somente os dados das

amostras que foram realizadas as análises moleculares. As matrizes das comunidades bacterianas foram geradas utilizando o programa Bionumerics v 6.0 (Applied Maths) de acordo com as instruções do fabricante, transformando os perfis de bandas em valores quantitativos.

As diversas matrizes foram ordenadas pela análise de escalonamento multidimensional não métrico (NMS) (KRUSKAL, 1964; MATHER, 1976) rodando com a distância de matrizes de Sørensen. O NMS foi feito usando uma configuração iniciadora aleatória, a os dados das matrizes foram analisados utilizando 50 corridas com dados reais e comparado com o teste de Monte Carlo, com cinquenta corridas de dados aleatórios. A solução do NMS foi restringido a duas dimensões, com o objetivo de simplificar as análises e discussão dos dados (critério de estabilidade = 0,00001; interações para avaliar estabilidade = 15 e numero máximo de interações = 250). A estabilidade dos padrões de ordenação em dimensão reduzida foi construída plotando os valores de stress pelo números de interação.

Para avaliar a associação entre a matriz gerada com os dados das propriedades físico-químicas e as matrizes de perfis de DGGE, foi utilizado o teste de Mantel (DOUGLAS; ENDLER, 1982), que avalia a hipótese de não existir relação entre duas distâncias de matrizes

Todas as análises de Mantel foram rodadas usando a aproximação assintótica de Mantel e a distância de Sørensen (BRAY; CURTIS, 1957).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Propriedades físicas do solo

Diferenças significativas entre as áreas foram encontradas para densidade, temperatura e espaço poroso preenchido por água (EPPA) (Tabela 6). No entanto, os valores de umidade foram estatisticamente iguais nos três tratamentos.

Tabela 6 – Densidade, temperatura média e umidade, espaço poroso preenchido por água e porosidade do solo (0-10cm) nas três áreas estudadas. Letras iguais na coluna representam diferenças não significativas entre os tratamentos, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tratamento	Densidade (g/cm ³)	Temperatura (°C)	Umidade	EPPA (%)	Porosidade
Cerrado	0,96 ^b	23,6 ^b	29,2 ^a	41,8 ^b	67,0 ^a
Cana Crua	1,25 ^a	25,3 ^b	26,2 ^a	58,7 ^a	55,8 ^b
Cana Queimada	1,31 ^a	29,1 ^a	27,6 ^a	64,9 ^a	55,7 ^b

A prática do cultivo provocou o aumento na densidade do solo nas áreas com cana, que apresentaram valores significativamente maiores que os observados para a área com vegetação nativa. O aumento na densidade dos solos é um fenômeno comumente observado quando um solo passa de uma condição natural para uma condição de cultivo. A compactação do solo em canaviais (com maior efeito naqueles manejos sob regime de uso da queima) tem sido reportada por alguns autores (RESENDE et al., 2006, SILVA; CABEDA; CARVALHO, 2006, PINHEIRO et al., 2007) e ocorre devido ao colapso dos agregados do solo provocado durante o processo de revolvimento do solo, utilização de maquinário agrícola e perda de matéria orgânica (CASSEL; LAL, 1992; NEILL et al., 1998; SILVA; CABEDA; CARVALHO, 2006).

A área de cana queimada apresentou elevação significativa na temperatura em relação às demais áreas. Isso ocorre, provavelmente, porque a queima resulta na remoção das folhas e, portanto, diminuição dos resíduos culturais. O solo mais exposto sofre a incidência direta dos raios solares sob sua superfície, provocando o aumento da temperatura na camada mais superior (0-10 cm). Urquiaga (1991) reportou que um dos benefícios da manutenção da palhada sobre o solo está na atenuação das altas temperaturas no solo.

Não foram detectadas diferenças nos teores de água nas três áreas, mas as áreas com cana apresentaram valores superiores de EPPA, devido principalmente à compactação do solo nas áreas de cana em relação ao Cerrado, o que produziu diminuição na porosidade do solo.

Em geral, a porosidade e umidade também estão relacionadas com o controle da temperatura. No entanto, como não ocorreram diferenças significativas nos teores de água das três áreas e a porosidade das áreas de cana são estatisticamente iguais, o fator mais relevante na elevação da temperatura do solo na camada superficial da área de cana queimada foi a remoção da palhada de cobertura do solo.

5.2 Teores e estoque de carbono e nitrogênio do solo

A área sob cana crua apresentou o menor teor de C e de N do solo, sugerindo que o manejo de manutenção da palhada sobre o solo reduz a matéria orgânica do solo. Embora esse dado pareça contraditório com o que a literatura cita (RESENDE et al., 2007; PINHEIRO et al., 2007), outros autores estudando diferentes culturas e distintos sistemas de manejo (GREEN et al.,

2007), incluindo a cana-de-açúcar (SILVA et al., 2007) reportam o tempo como determinante para o retorno dos teores e estoques de C do solo. Este último, por exemplo, verificou que apenas após 26 anos a fração intermediadora da formação dos demais compartimentos da MOS, a fração particulada, atingiu patamares equivalentes a uma condição mais antiga.

Acredita-se que na fase de transição de um manejo para o outro, a incorporação recente de matéria orgânica, mais lábil que aquela incorporada na forma de cinzas e carvão em áreas sob queima, possa ser rapidamente aproveitada pela biota do solo e respirada, em detrimento da sua estabilização em superfície. Outro indicativo de que a hipótese levantada é verdadeira reside nos valores mais altos de $\delta^{13}\text{C}$ e ^{15}N encontrados nas parcelas de cana crua (Tabela 7).

É sabido que quanto mais aberto é um sistema, ou mais dinâmico os processos biológicos ocorrem, maior será o fracionamento desses isótopos e mais enriquecido ficará o solo (NATELHOFER; FRY, 1988, MARTINELLI et al., 1999; BUSTAMANTE et al., 2006). O $\delta^{15}\text{N}$ das áreas, especialmente para a área de cana crua, está mais enriquecido que do observado por outros autores (BUSTAMANTE et al., 2004, NARDOTO, 2005, COLETTA et al., 2009). A fixação biológica do nitrogênio ocorre naturalmente tanto em áreas de Cerrado (BUSTAMANTE et al., 2001) quanto em cana-de-açúcar (SOARES et al., 2009) e tendem a deixar o valor de $\delta^{15}\text{N}$ do solo próximos a zero. O alto valor de $\delta^{15}\text{N}$ observado para todas as três áreas sugere que a participação do nitrogênio advindo de fixação biológica no total de N na camada superficial é pequena, e que a ciclagem do N dentro do próprio sistema está contribuindo mais fortemente.

A hipótese de que o C original e o recém incorporado estejam sendo mais usado pela biota da área de cana crua que na área de cana queimada também é levantada, já que em áreas de cana crua os valores de δ tendem para sinais indicadores de plantas de rota C₄.

Outro fator que não pode ser descartado na manutenção do C na área de cana queimada é o teor de argila da que se apresenta cerca de 100 g kg⁻¹ superior em relação as demais áreas, o que permite maior interação e estabilização de subprodutos do metabolismo microbiano e substâncias húmicas com a fração mineral do solo, diminuindo a decomposição da matéria orgânica (BAYER; MIELZINCZUK, 2008).

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ da área de Cerrado e cana queimada são semelhantes aos de Miranda et al. (1997) e Nardoto (2005), porém um pouco mais enriquecida que às encontradas em outros Cerrados por Coletta et al. (2009) e Roscoe et al. (2000; 2001).

Os teores de carbono são semelhantes aos encontrados por Pinheiro et al. (2007) em área de cana sob Cerrado. Entretanto, alguns estudos em Cerrado reportaram teores mais elevados (ROSCOE et al., 2001, VARELA et al. 2004, MARCHETTI, 2005, COSTA-JÚNIOR, 2008) o que pode ser atribuído a diferença no conteúdo de argila nos solos (diferenças > 100 g kg⁻¹).

Tabela 7 - Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, teores de carbono e nitrogênio e relação C/N nos três tratamentos (0-10 cm, n=14). Letras iguais na coluna representam diferenças não significativas entre os tratamentos, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tratamento	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	C	N	C/N
	‰				
Cerrado	-22,8a	8,8b	12,5a	0,7a	17,9b
Cana Crua	-20,9b	11,4a	6,7b	0,3b	22,3a
Cana Queimada	-23,1a	8,3b	15,9a	0,9a	16,4b

Os teores de N são semelhantes aos encontrados por Coletta et al. (2009), porém menores que os observados por outros autores em outras áreas de Cerrado com maior proporção de argila (VARELA et al., 2004, SIQUEIRA NETO, 2006, COSTA-JÚNIOR, 2008).

A relação C:N também apresentou diferenças estatísticas para a área com cana crua, com elevação significativa. Os valores da área de Cerrado estão dentro do intervalo encontrado nos trabalhos de Varela et al., (2004) e Coletta et. al., (2009).

Houve diferença significativa também, nos estoques de carbono e nitrogênio nos três tratamentos (Figura 8).

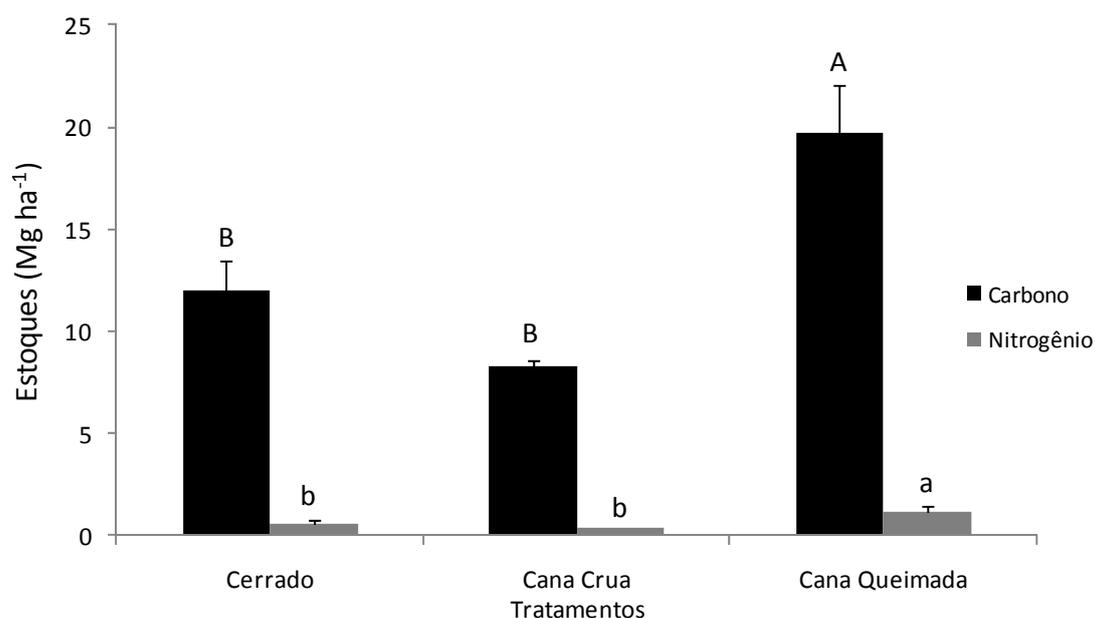


Figura 8 – Estoques de carbono e nitrogênio ($m \pm dp$) do solo (0-10 cm, $n=14$) nas áreas estudadas. Letras iguais [maiúsculas (carbono), minúsculas (nitrogênio)] não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

É preciso cuidado ao analisar os dados de estoques de carbono e nitrogênio, para que não surja a idéia de que cultivar a cana no regime de queima é uma prática que resulte no acúmulo de carbono no solo. Estoques

são calculados baseando-se na densidade e no teor do elemento e o teor de carbono e nitrogênio do Cerrado é estatisticamente igual ao presente na área de cana queimada. No entanto, nas áreas de cana ocorreu a compactação do solo na camada estudada. Como visto na Tabela 7, a densidade do solo no Cerrado é menor que as demais, logo, o cálculo de estoque na camada é feito considerando uma massa de solo maior nas áreas de cana que na área nativa. Portanto, existe sim mais carbono estocado na camada 0 a 10 cm na área de cana queimada, mas esse valor superior não é resultado de incorporação de carbono, e sim da compactação da camada superior. Portanto, teoricamente, a camada 0 a 10 cm é relativa a uma camada maior que seria de 0 a $10+x$ cm, no qual esse x varia de acordo com o grau de compactação do solo.

No caso da cana crua, que também apresenta um estoque menor de carbono que a área de cana queimada, ocorreu um efeito diferente. Pois nesse caso a diferença não é resultado da compactação do solo, mas sim, da redução no teor de carbono.

Como o estoque de C de uma área é dependente do teor de C e da densidade do solo da camada amostrada, mas as práticas de manejo alteram a densidade do solo (uso de maquinários e pastejo, por exemplo), a equivalência de massas entre áreas sob comparação tem sido sugerido por alguns autores (VELDKAMP, 1994; NEILL et al., 1997). Desta forma, a apresentação dos dados relativos aos estoques na Figura 9, refere-se a valores corrigidos para uma mesma massa de solo.

Verifica-se então que os estoques de carbono do Cerrado e da área de Cana Queimada são estatisticamente iguais, e que na área de Cana Crua

houve perda significativa no estoque para a camada amostrada (0-10 cm) (Figura 9).

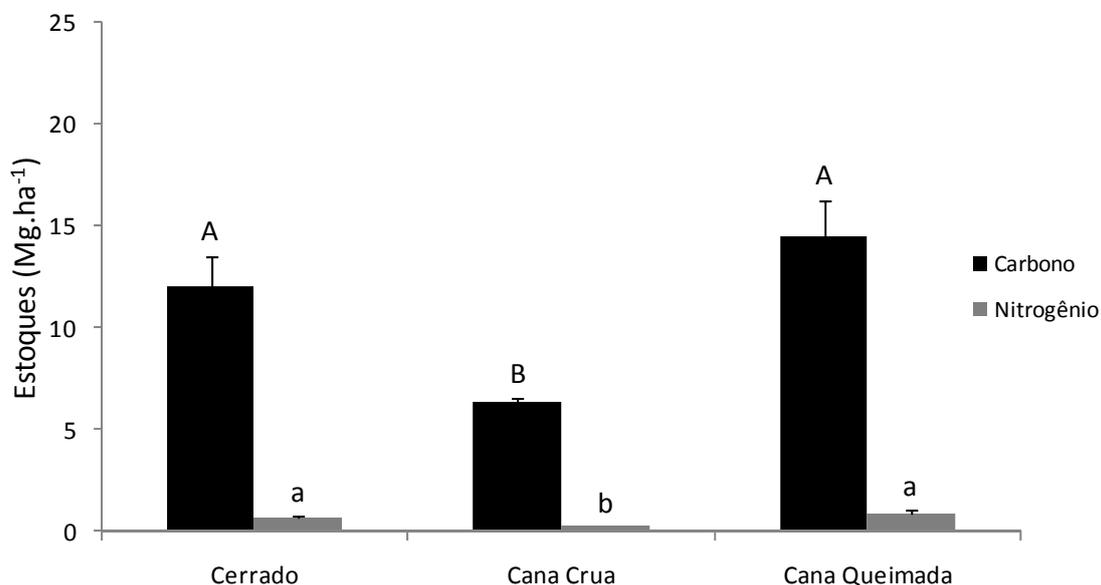


Figura 9 – Estoques de carbono e nitrogênio ($m \pm dp$) do solo (0-10 cm, $n=14$) nas áreas estudadas. Letras iguais [maiúsculas (carbono), minúsculas (nitrogênio)] não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Os estoques de carbono e nitrogênio são semelhantes aos observados por Pinheiro et al. (2007) em área de cana e Cerrado, e inferiores aos observados por Costa-Júnior em área próxima de Cerrado (2008). A perda dos estoques de carbono e nitrogênio é reflexo da diminuição dos teores desses elementos na camada superficial do solo, como discutido anteriormente.

5.3 Distribuição das classes de agregados e índices de agregação do solo

As áreas estudadas apresentaram diferenças significativas na proporção da massa dos agregados, obtida através separação por via seca, em todas as classes testadas, com exceção da classe entre 1 e 0,5 mm (Figura 10).

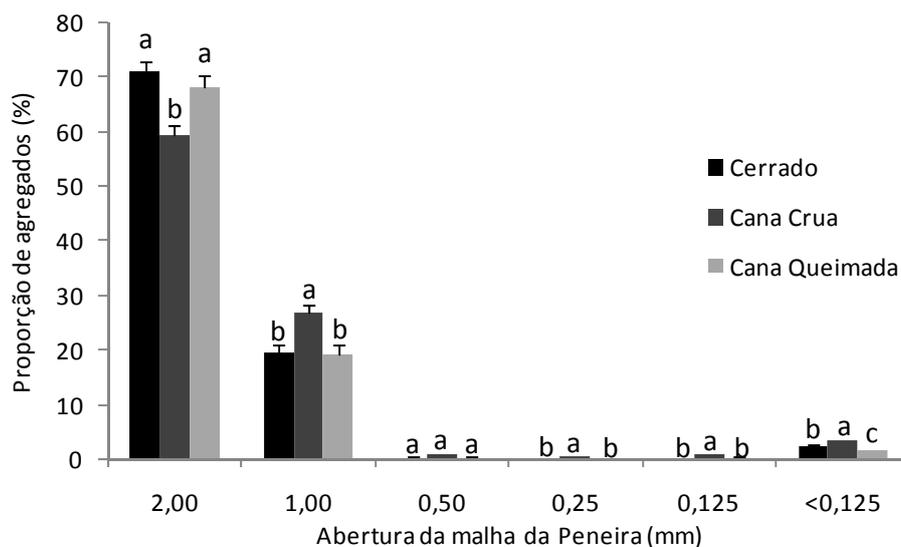


Figura 10 – Valores médios (n=15) da proporção dos agregados do solo (0-10 cm nas diversas classes. Letras iguais em uma mesma classe representam diferenças não significativas entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

No Cerrado e na área de Cana Queimada, cerca de 70% dos agregados possuem diâmetro maior que 2 mm, esse valor cai para sessenta por cento na área de cana crua. Estes valores estão de acordo o observado em áreas próximas por Costa-Júnior (2007). A classe de diâmetro entre 2 e 1 mm representa cerca de 20% dos agregados das áreas de Cana Queimada e Cerrado, e 30% dos agregados da área de Cana Crua.

De acordo com o resultado foi possível verificar que a área de cana crua apresentou um decréscimo na proporção de agregados da classe de maior tamanho, e aumento de agregados das classes de agregados de menor tamanho, sugerindo que a quebra de agregados > 2 mm refletiu em todas as classes, com exceção da classe entre 1 e 0,5 mm. A classe de agregados de diâmetro entre 1 e 2 foi a que recebeu a maior parte dos agregados oriundos da quebra da classe de agregados. Acredita-se que essa fato esteja relacionado com a perda significativa do C observada nas áreas de cana crua

(Tabela 7). A ruptura dos agregados provoca uma relação de causa efeito com a perda da MOS. A diminuição da MOS induz uma menor estabilidade dos agregados (Figura 12), que por conseguinte sofre mais quando ocorre a colheita mecanizada da cana, resultando em colapso dos agregados. Ao mesmo tempo, a quebra dos agregados expõe a matéria orgânica e induz maior perda de C do solo (SIX et al., 2002).

Silva, Cabeda e Carvalho (2006) não encontraram diferenças significativas entre as áreas em estudo (cana-de-açúcar em sequeiro, irrigado e com uso de vinhaça e vegetação natural) para os valores de DMP quando usou o método de segregação por via seca, mas encontraram menores valores para áreas cultivadas com cana, quando por via úmida, atribuindo esse achado aos menores teores de C orgânico total do solo e da matéria orgânica particulada. BARRETO et al. (2009), por sua vez e utilizando o método por via seca, detectaram que as maiores diferenças entre os sistemas de manejo (direto vs convencional) se deram para os maiores agregados (>2 mm).

Todos os três índices (DMP, DMG e IEA) utilizados para medir o grau de agregação do solo refletiram as diferenças estatísticas da mesma forma (Figuras 11 e 12). Em todos os três índices, Cerrado e cana queimada apresentaram valores sem diferenças significativas e a área com cana crua apresentou valores significativamente menores, corroborando com o reportado anteriormente para as alterações nas classes de agregados.

Os valores de DMP são menores que os observados (via úmida) em área próxima de cerrado, com alto teor de argila, por Costa-Júnior (2007).

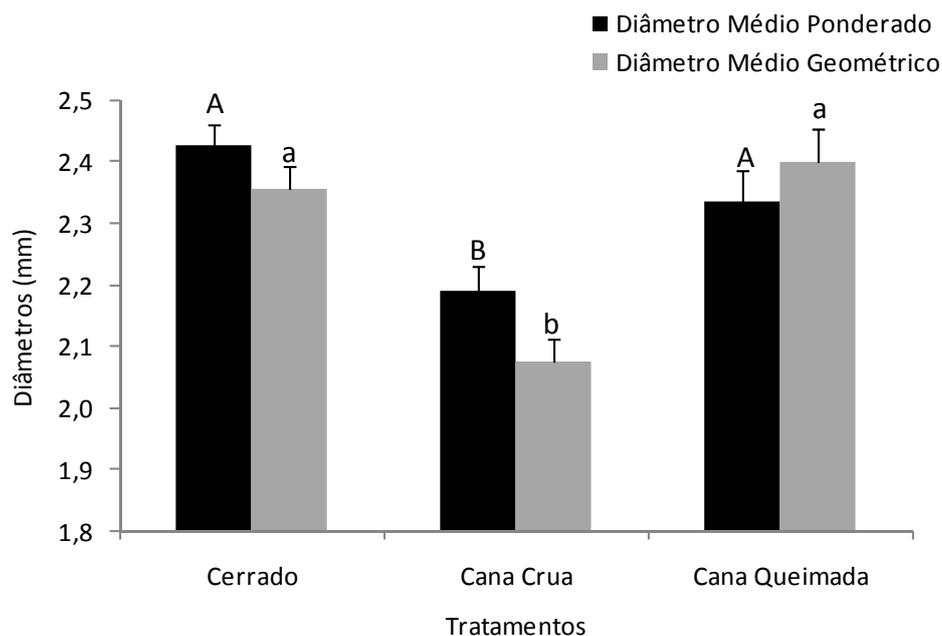


Figura 11 – DMP e DMG ($m \pm dp$) do solo (0-10 cm, $n=15$) nas áreas estudadas. Letras iguais [maiúsculas (DMP), minúsculas (DMG)] não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Mas foram semelhantes aos encontrado por Souza, Marque Júnior e Pereira (2004), em áreas de cana de açúcar.

O DMP médio no Cerrado nativo foi um pouco maior que na área de cana queimada, mas sem diferenças significativas. Contraditóriamente ao resultado obtido por Góes et al. (2006) e Centurion et al. (2007) que verificaram efeito significativo da introdução da cana com manejo de queima na redução dos valores de DMP, porém, utilizando a metodologia via úmida.

A diferença entre a área de cana queimada e de cana crua mostra a grande influência que a utilização que as máquinas agrícolas exercem sobre o solo. E confirmou a previsão de Soares et al. (2009) quando preconizaram que o aumento na utilização de colheitadeiras mecanizadas em canaviais, devido a colheita crua, pode agravar os problemas relacionados à compactação do solo.

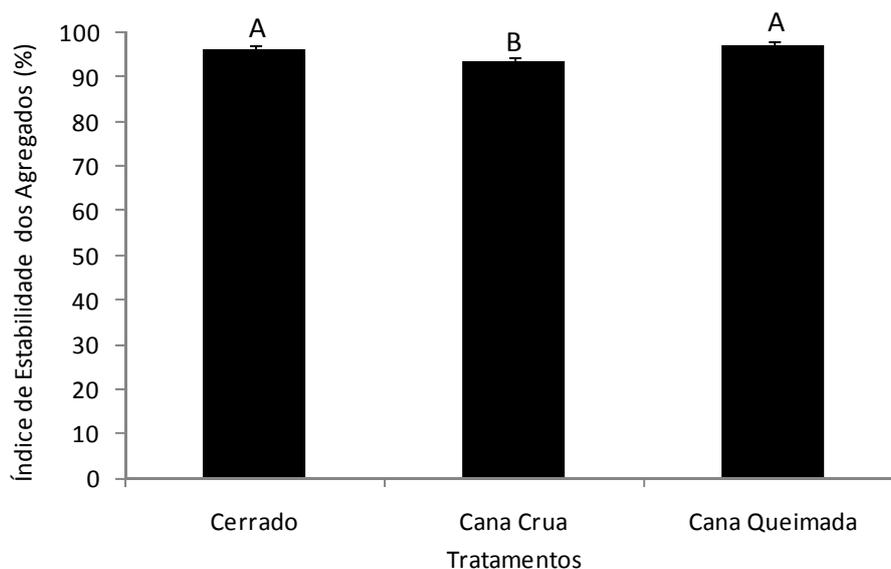


Figura 12 – Índice de estabilidade dos agregados ($m \pm dp$) do solo (0-10 cm, $n=15$). Letras iguais representam diferenças não significativas entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

De uma forma geral as três áreas possuem um estado elevado de agregação do solo, como pode ser visto pelo índice de estabilidade de agregados, que foi superior a 93% em todos os tratamentos. Tal resultado mostrou que a mineralogia do solo (rica em óxido de Fe) também contribuiu fortemente para a estabilidade dos agregados nesse ambiente (FERREIRA, FERNANDES, CURI, 1999; TISDAL, OADES, 1982).

5.4 Teores de nitrogênio mineral e taxas líquidas de mineralização e nitrificação

O uso da terra alterou quantitativa e qualitativamente a reserva de N mineral nos tratamentos. Na área de Cerrado foi encontrada predominância da forma mineral amônio sobre nitrato no solo, no entanto, as áreas manejadas com cana-de-açúcar apresentaram a forma nítrica como a mais abundante (Figura 13). A maior quantidade de amônio no Cerrado e a inversão da forma

predominante em áreas cultivadas já foi observado por d'Andrea et al. (2002) e Bustamante et al. (2006).

O Teor de amônio sob solo com vegetação nativa foi significativamente superior ao sob área de Cana Queimada, mas similar ao observado sob área de Cana Crua. Já o teor de nitrato do Cerrado foi menor que o encontrado nos tratamentos com cana, que não diferiram entre si. É possível notar também, um aumento geral no teor de nitrogênio mineral nas áreas de cultivo, o que se deve, provavelmente, à aplicação de fertilizantes nas áreas. Os valores encontrados são semelhantes aos observados por Varela et al. (2004) e d'Andréa et al. (2004) em outras áreas de Cerrado.

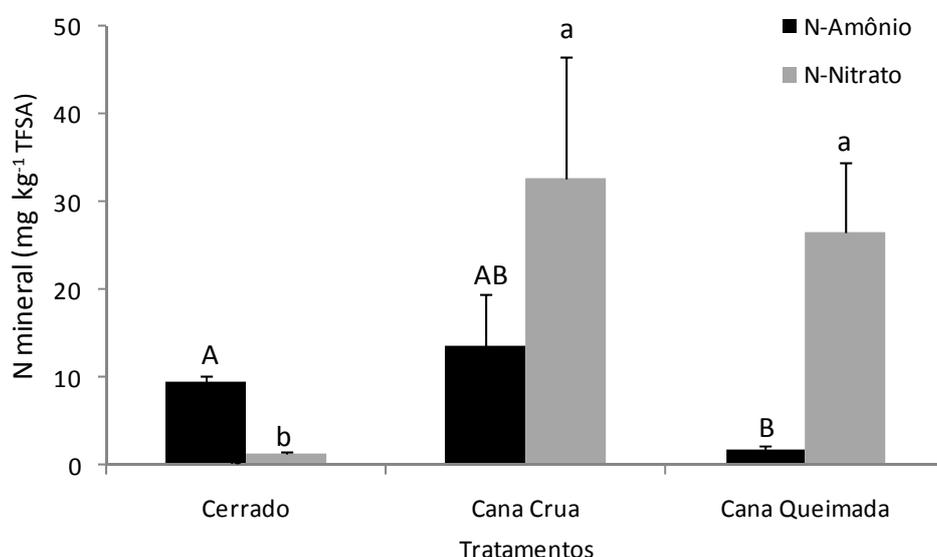


Figura 13 – Teores de amônio e nitrato ($m \pm dp$) no solo (0-10 cm, $n=15$), nas áreas estudadas. Letras iguais [maiúsculas (Amônio), minúsculas (Nitrato)] não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kolmogorov-Smirnov (5%).

Altas relações $N-NH_4^+ : N-NO_3^-$ podem ser frutos de processos distintos. De um lado podem ser resultantes de mecanismos que inibem a nitrificação, como forma de manter maiores concentrações de N mineral na região das

raízes. De outro, pode ser ocasionados por altas taxas de desnitrificação e/ou lixiviação da forma nítrica do N (MEIER; THORBURN; PROBERT, 2006). No caso desse estudo, o fator principal que interferiu na relação amônio:nitrato deve ter sido a taxa de desnitrificação do N, haja vista que as maiores taxas de nitrificação foram mensuradas no Cerrado, que também apresentou predominância de amônio. Adicionalmente, as taxas de potencial de desnitrificação quantificadas no Cerrado foram muito maiores que as encontradas nas áreas de cana, como será visto mais adiante.

Foi possível verificar o efeito da introdução do cultivo de cana sobre as taxas líquidas de mineralização e nitrificação do N do solo, ocorrendo uma diminuição significativa em ambas as taxas nas áreas cultivadas em relação ao Cerrado (Tabela 8). Esse tipo de fenômeno foi reportado após eventos de perturbação ou mudanças no uso do solo (NEILL et al., 1999; CASTALDI; ARAGOSA, 2002; BUSTAMANTE et al., 2006).

Tabela 8 – Taxas líquidas de mineralização e nitrificação do solo (n=15) obtidas com incubação de 7 dias, em $\mu\text{g g}^{-1} \text{TFSA.dia}^{-1}$. Letras iguais representam diferenças não significativas entre os tratamentos (Kolmogorov-Smirnov, 5%)

Tratamento	Mineralização	Nitrificação
	$\text{mg kg}^{-1} \text{TFSA.dia}^{-1}$	
Cerrado	2,62a	2,57 a
Cana Crua	-4,16 b	-2,46 b
Cana Queimada	-0,52 b	0,39 b

Aparentemente, a queima ou manutenção da palhada não modificaram significativamente as áreas, corroborando com Nardoto e Bustamante (2003), que verificaram o mesmo padrão de mineralização e nitrificação em áreas de cerrado com e sem influência de queimada.

Bustamante et al. (2006) mostram que Cerrados, em geral, apresentam taxas de nitrificação e mineralização bastante baixas, principalmente em fisionomias do tipo campo sujo. No entanto, os dados deste estudo indicam taxas medianas a altas tanto de mineralização quanto de nitrificação, compatíveis com solos amazônicos, tanto de florestas quanto de pastagens (NEILL et al., 1999). Provavelmente para o Cerrado do tipo Cerradão, cuja fisionomia apresenta alta densidade de árvores de maior porte, as taxas médias sejam distintas de outras fisionomias do Cerrado e mais parecidas com áreas florestais. Porém, maiores estudos são necessários para que isso seja comprovado.

5.5 Taxas de desnitrificação potencial

A quantificação da desnitrificação potencial apresentou uma grande diferença entre o potencial da atividade enzimática da área natural e as áreas com cana (Figura 14). No Cerrado a taxa de desnitrificação potencial foi muito superior ($2,58 \mu\text{g g TFSA}^{-1}.\text{dia}^{-1}$) às áreas cultivadas; que não diferiram entre si (Cana Crua e Cana Queima $0,09$ e $0,12 \mu\text{g g TFSA}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, respectivamente).

Os resultados sugerem que transformação do Cerrado para uso agrícola e atualmente sob cana-de-açúcar parece ter reduzido significativamente o potencial de desnitrificação, o que poderia ser devido a uma supressão da atividade microbiana específica responsável pelo processo de desnitrificação (ver discussão posterior).

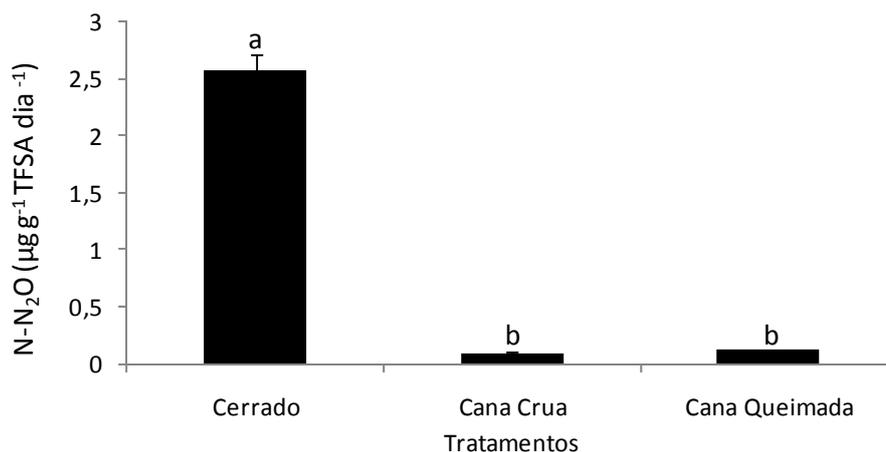


Figura 14 – Taxas de desnitrificação potencial ($m \pm dp$) do solo (0-10 cm) sob Cerrado ($n=3$), Cana Crua ($n=2$) e Cana Queimada ($n=3$), em experimento de incubação no laboratório. Letras iguais representam diferenças não significativas entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

A princípio, essa modificação se deu pelo histórico agrícola de ocupação da área e introdução mais recente de cana-de-açúcar, e não em relação ao seu manejo, pois a área com cana crua apresentou valores estatisticamente iguais aos da cana queimada. Isso corrobora com os dados de Castaldi e Aragosa (2002), que não observaram qualquer correlação entre a incidência de fogo e a atividade da enzimas desnitrificantes.

5.6 Fluxos de gases de efeito estufa provenientes do solo

Os fluxos de CO₂ e de N₂O tiveram um comportamento relativamente semelhante (Figuras 15A e 15B). Não foi possível verificar diferenças estatísticas no fluxo desses gases entre as diferentes áreas. No entanto, o fluxo do metano sofreu alterações significativas com a introdução do cultivo de cana-de-açúcar (Figura 15C).

Não foi possível detectar qualquer influência da utilização ou manejo da terra sobre os fluxos de CO_2 ou N_2O , pois os fluxos médios encontrados nas áreas foram estatisticamente iguais para todos os tratamentos.

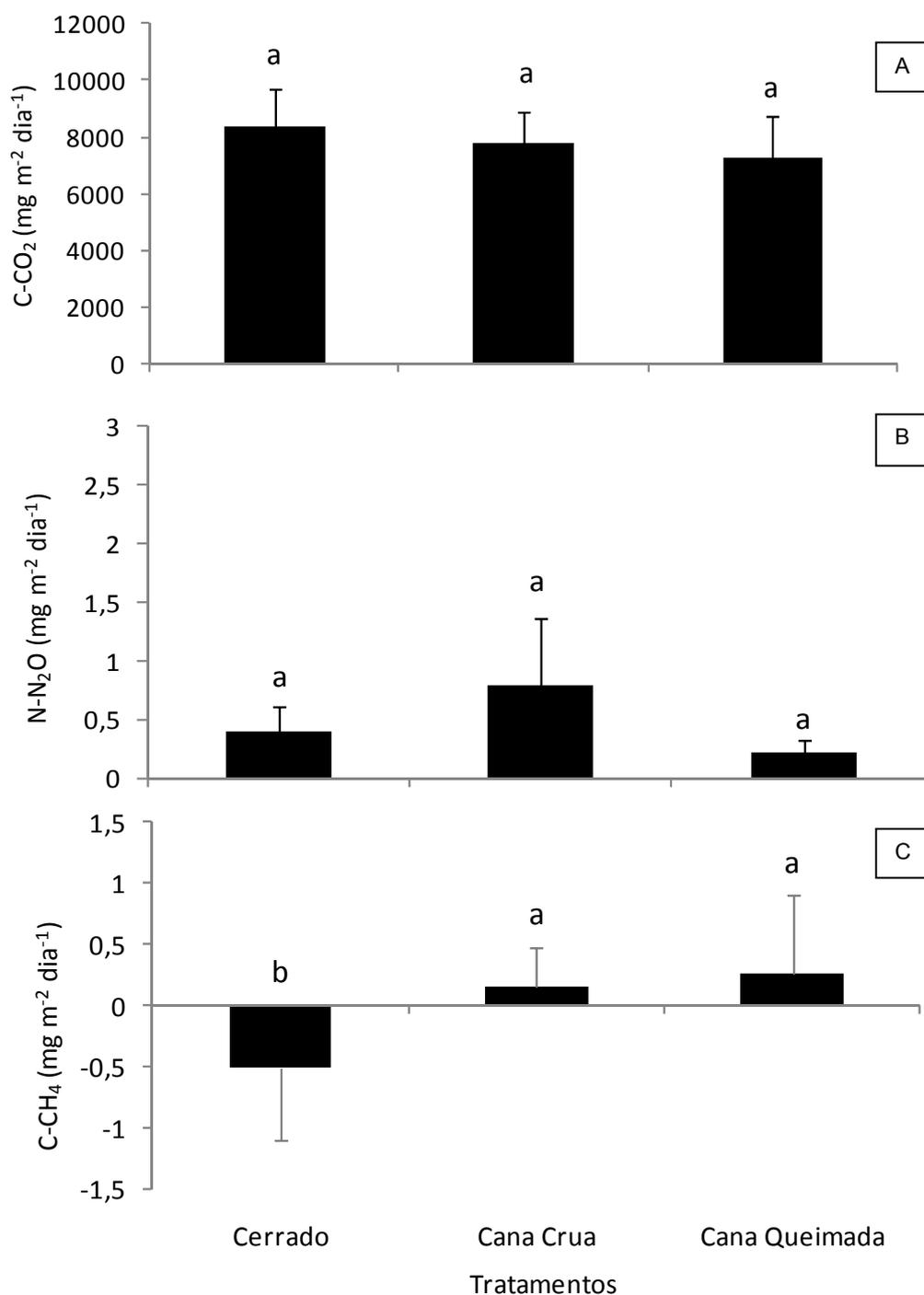


Figura 15 - Fluxo de C-CO_2 (A), de $\text{N-N}_2\text{O}$ (B) e de C-CH_4 (C), provenientes do do solo. Médias (\pm dp) dos tratamentos sob Cerrado ($n=18$), Cana Queimada ($n=18$), e Cana Crua ($n=12$). Letras iguais representam diferenças não significativas (5% de probabilidade) entre os tratamentos pelo teste de Tukey para o CO_2 e Kolmogorov-Smirnov para o CH_4 e N_2O

Os dados de CO₂ das áreas de cana sob Cerrado então dentro da variação normalmente encontrada em solos com cana ou Cerrado (La SCALA JUNIOR; BOLONHESE, PEREIRA, 2006, PANOSO et al., 2008)

Os fluxos de N₂O são baixos e estão na faixa encontradas em savanas ao longo do mundo (CASTALDI; ERMICE; STRUMIA, 2006). Os valores encontrados demonstram que o óxido nitroso, nesse bioma, contribui de forma minoritária para a intensificação do efeito estufa, mesmo quando levado em conta o potencial de aquecimento global 296 vezes maior do N₂O em relação ao CO₂ (IIPC, 1997).

Embora no experimento em laboratório o Cerrado tivesse apresentado um potencial de desnitrificação bem superior os observados nas áreas de cana, esse fato não ocorreu para as medidas de óxido nitroso diretamente do solo. Isso mostra que a produção de óxido nitroso no caso destas áreas não está sendo limitada pela atividade microbiana, mas por outros fatores. Nesse caso, provavelmente devem ser os valores baixos de NO₃⁻ e WFPS encontrados no Cerrado. O baixo teor de nitrato limita o processo de desnitrificação por falta de substrato, e o baixo valor de WFPS resulta em maior aeração do solo, resultando, portanto, em baixa atividade das enzimas desnitrificantes (ROBERTSON, et al., 1999).

O fluxo de metano foi alterado de forma significativa com a mudança do uso do solo. No Cerrado foram observados valores médios de fluxo negativo, o que evidencia uma absorção de CH₄ da atmosfera para o solo. Já o solo sob cana apresentou fluxos médios positivos, funcionando como uma fonte de CH₄ do solo para atmosfera. Os valores obtidos, e o fenômeno de inversão no

sentido do fluxo estão de acordo com o observado por outros autores (CASTALDI; ERMICE; STRUMIA, 2006), e provavelmente também está associado com o menor valor de EPPA encontrado no Cerrado, já que em condições de aerobiose, a ação de Archeas metanogênicas é inibida, e estimula-se a ação das metanotrófica (CASTALDI; ERMICE; STRUMIA, 2006).

Em todos os três tratamentos os fluxos de CH_4 e N_2O são baixos e estão na faixa encontradas em savanas ao longo do mundo (CASTALDI; ERMICE; STRUMIA, 2006). Os valores encontrados demonstram que o metano e óxido nitroso, nesse bioma, contribuem de forma minoritária para a intensificação do efeito estufa.

Com o objetivo de entender a dinâmica espacial dos dentro das áreas cultivadas, os dados de fluxos foram separados por local de coleta dos gases, considerando à distância da câmara em relação à linha de plantio. Os resultados mostram uma emissão espacialmente dependente do local de inserção das câmaras (Figuras 16A e 16B).

Nesse sentido, mais uma vez o CO_2 e o N_2O tiveram comportamentos bastante semelhantes. Em ambos os casos, foi observado um fluxo estatisticamente maior na região de linha, em relação à entrelinha. Isso evidencia a ligação entre o fluxo desses gases e a região rizosférica das plantas. Sabe-se que nessa região devido a maior atividade microbiana na é muito maior devido aos exudatos das raízes, localização da adubação e no caso do CO_2 também deve ser citada a respiração das raízes.

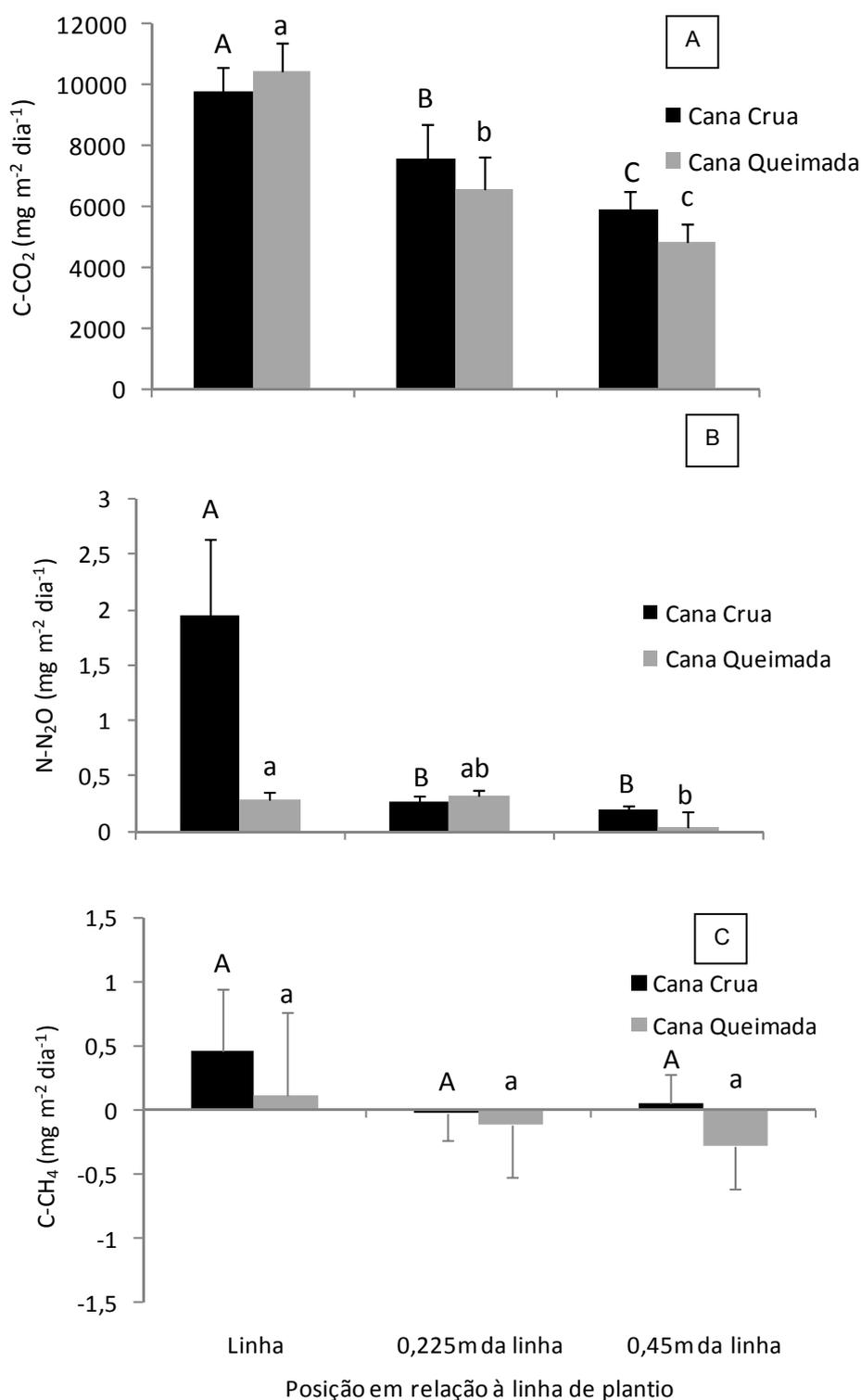


Figura 16 - A - Fluxos de C-CO₂; B - Fluxos de N-N₂O; C - Fluxos de C-CH₄, nos tratamentos Cane Queimada (n=6 para cada posição) e Cane Crua (n=4 para cada posição). Médias dos fluxos (\pm dp) na linha de plantio, a 0,225m da linha e a 0,45m da linha (entre linha). Letras iguais [maiúsculas (cane crua), minúsculas (cane queimada)] não diferem estatisticamente entre si (5% de probabilidade) pelo teste de Tukey para o CO₂ e Kolmogorov-Smirnov para o CH₄ e N₂O .

Já o CH₄ (Figura 16C) não apresentou fluxos estatisticamente maiores ou menores para as diferentes posições, não foi possível ver um padrão para o fluxo desse gás em relação a posição das câmaras, e os desvios obtidos produziram diferenças não significativas. A ausência de um padrão provavelmente ocorre porque nesse caso aparentemente não existe uma ligação íntima do fluxo desse gás (atividade microbiana metanogênica/metanotrófica) com a região rizosférica das plantas. Seu fluxo provavelmente está sendo determinado por fatores ainda mais pontuais, que variam de câmara para câmara, impedindo uma generalização em relação a uma área tratamentos.

Para facilitar a comparação da contribuição de cada gás na emissão de gases de efeito estufa para a atmosfera, os fluxos de CH₄ e N₂O foram convertidos para fluxos de carbono equivalentes (Tabela 9), utilizando os valores de referência do potencial de aquecimento global de 23 vezes para o metano e 296 vezes para o óxido nitroso (IPCC, 2001).

Tabela 9 – Fluxos médios de metano e óxido nitroso convertidos em carbono equivalente (C-eq) para os três tratamentos. Letras iguais na coluna representam diferenças não significativas de acordo com o teste de tukey, a 5% de probabilidade

Tratamento	Metano	Óxido Nitroso	Total
	C-equivalente (mg m ⁻² dia ⁻¹)		
Cerrado	-11,8 ^b	101,3 ^a	89,5 ^a
Cana Crua	3,7 ^a	48,5 ^a	52,2 ^a
Cana Queimada	5,9 ^a	27,8 ^a	33,7 ^a

A conversão auxilia na comparação entre o fluxo dos dois gases e indica que o óxido nitroso possui uma ordem de grandeza acima do metano, em

termos de carbono equivalente. Os dados mostram que os fluxos de metano e o óxido nitroso são muito baixos quando comparados aos fluxos de dióxido de carbono. Enquanto o primeiro e segundo apresentam fluxos totais médios de -1 e 60 mg m⁻² dia⁻¹ respectivamente, o terceiro apresenta fluxos de 380000 mg m⁻² dia⁻¹.

5.7 Estrutura das comunidades de bactérias totais e de bactérias nitrificantes e desnitrificantes.

Nos géis de DGGE, um grande número de bandas foi gerado com a utilização de todos os três primers, principalmente para o par de primers que codifica para a região do rDNA 16S (Figura 17A). Já o entre os primers funcionais, um maior número de amplicons foi observado para o grupo de bactérias desnitrificantes, em relação ao grupo de nitrificantes (Figuras 17B e 17C).

O maior número de bandas observadas com a utilização do primer que codifica para o rDNA 16S já era esperado, haja vista a grande diversidade de DNA bacteriano em solos (TORSVIK; GOSKØYR; DAAE, 1990), e a ausência de bandas destacadas sugere que aparentemente a comunidade bacteriana é equitativa, sem a dominância de nenhum grupo específico em nenhum dos tratamentos (SMALLA et al., 2001).

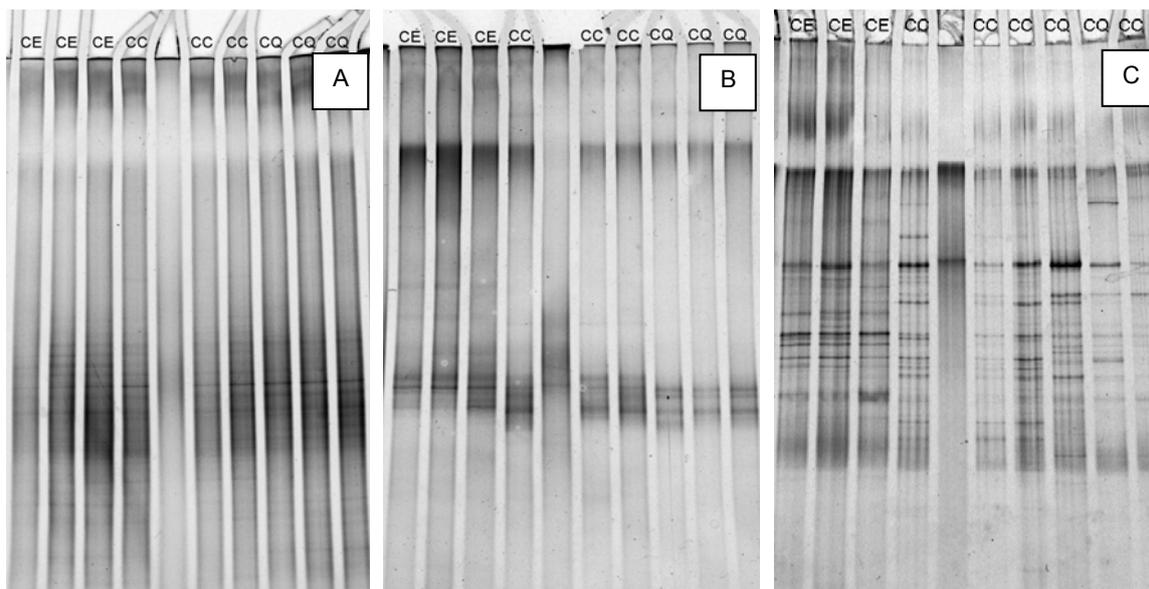


Figura 17 – Gel de DGGE, para os tratamentos Cerrado (CE), cana crua (CC) e cana queimada (CQ) de: A - bactérias (RNA 16S) obtido com gradiente de desnaturante de 30 a 60% . B – bactérias nitrificantes (*amoA*) obtido com gradiente de desnaturante de 40 a 70%. C – bactérias desnitrificantes (*nirK*) obtido com gradiente de desnaturante de 55 a 70%, com três repetições para cada tratamento

A análise da estrutura da comunidade bacteriana total, feita através dos perfis de bandas do DGGE, mostra que microbiota bacteriana sofreu impacto significativo tanto do uso (implantação da cana) quanto pelo manejo (queima) do solo (Figura 18). A ordenação gerada por meio do NMS agrupa os tratamentos em três regiões distintas e praticamente equidistantes sugerindo que a comunidade bacteriana total se estruturou de três formas diferentes, e não há maior ou menor relação de similaridade entre duas comunidades em relação à outra. A relativa proximidade entre as repetições mostra um padrão de estrutura dentro de cada tratamento.

A separação em grupos provocada pela mudança no uso do solo já foi descrito em outras culturas por autores que utilizaram o DGGE em diversos biomas (BOSSIO et al., 2004; ABOIM et al., 2008; XUE et al., 2008, BARRETO et al., 2009) e até mesmo em solo de Cerrado (PEIXOTO et al., 2005; ZILLI, 2007), no entanto, até onde se tem conhecimento, é a primeira vez que um

estudo tem como objetivo verificar os efeitos do cultivo e manejo de cana-de-açúcar na comunidade bacteriana sob solo de Cerrado.

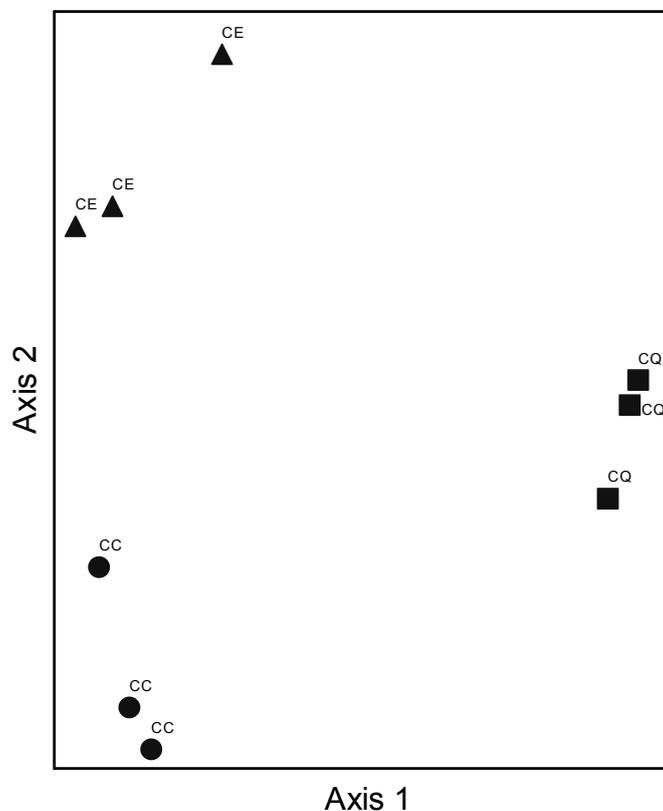


Figura 18: Ordenação de NMS dos perfis de DGGE de bactérias totais (rDNA 16S) para os tratamentos Cerrado (CE, 1), Cana Crua (CC, 2) e Cana Queimada (CQ, 3), nas três repetições

O Eixo 2 consegue discriminar todas as três áreas, com maior força a área de cana crua da área de cerrado, enquanto o eixo 1 não separa essas duas áreas, mas as agrupa na mesma região e as coloca distante da área de cana queimada.

A análise da estrutura da comunidade nitrificante, por sua vez, demonstra uma situação distinta (Figura 19). Nesse caso, o agrupamento não se deu em três grupos distintos e bem definidos, mas sim de forma mais difusa, mostrando uma variabilidade maior (grande variação entre os pontos de

amostragem) da estrutura da comunidade de nitrificantes dentro de um mesmo tratamento, que parece não ter um padrão bastante definido.

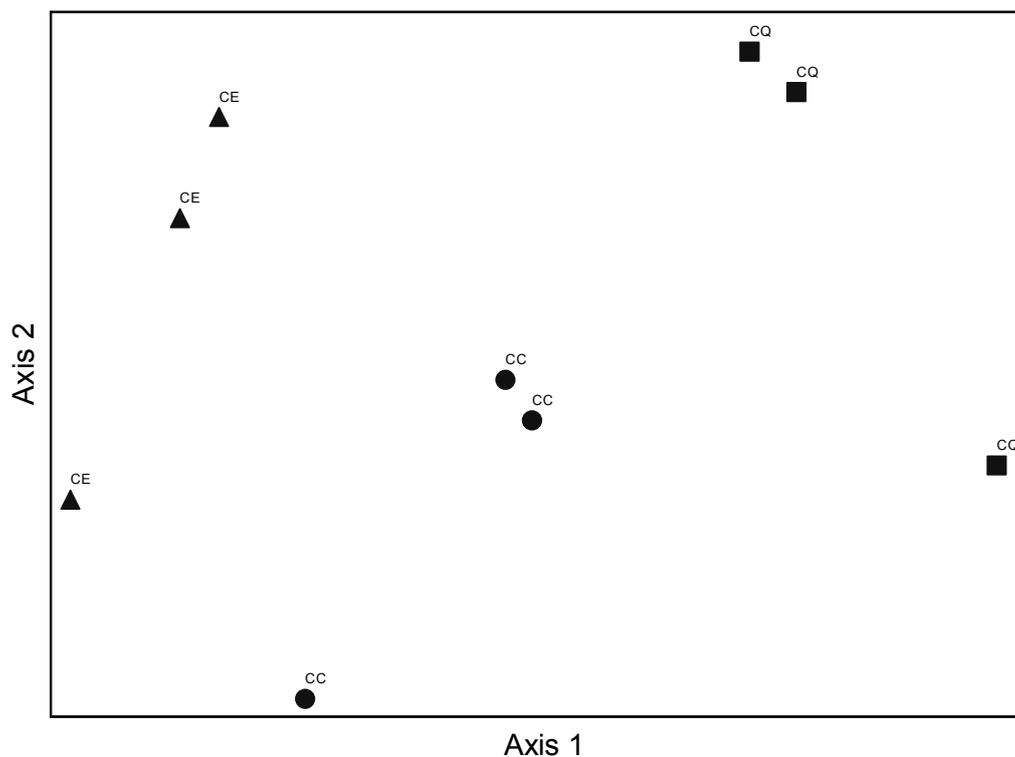


Figura 19 –Ordemação de NMS dos perfis de DGGE de bactérias nitrificantes (amoA) para os tratamentos Cerrado (CE, 1), Cana Crua (CC, 2) e Cana Queimada (CQ, 3), nas três repetições

De uma forma geral, os pontos do Cerrado se agruparam no lado esquerdo do eixo 1 da ordenação, enquanto os pontos da cana queimada reúnem-se ao lado direito, e a área de cana crua na região intermediária. O eixo 2 parece não conseguir discriminar as áreas. Isso sugere que a comunidade microbiana nitrificante respondeu à mudança no uso do solo, e que a área com manejo de queima representa um fator de intensificação nessa resposta, pois a estrutura da comunidade na área com queima é menos similar em relação à área com vegetação nativa do que a área sem queima.

A análise da estrutura da comunidade microbiana de desnitrificantes (Figura 20) revelou padrão de resposta mais semelhante à análise da

comunidade de Eubacterias. No entanto, a comunidade de desnitrificantes apresenta uma variação maior na estrutura da comunidade entre os pontos amostrais, e agrupa a área de cana crua próxima ao Cerrado e separa de forma bem clara a área com manejo de queima delas.

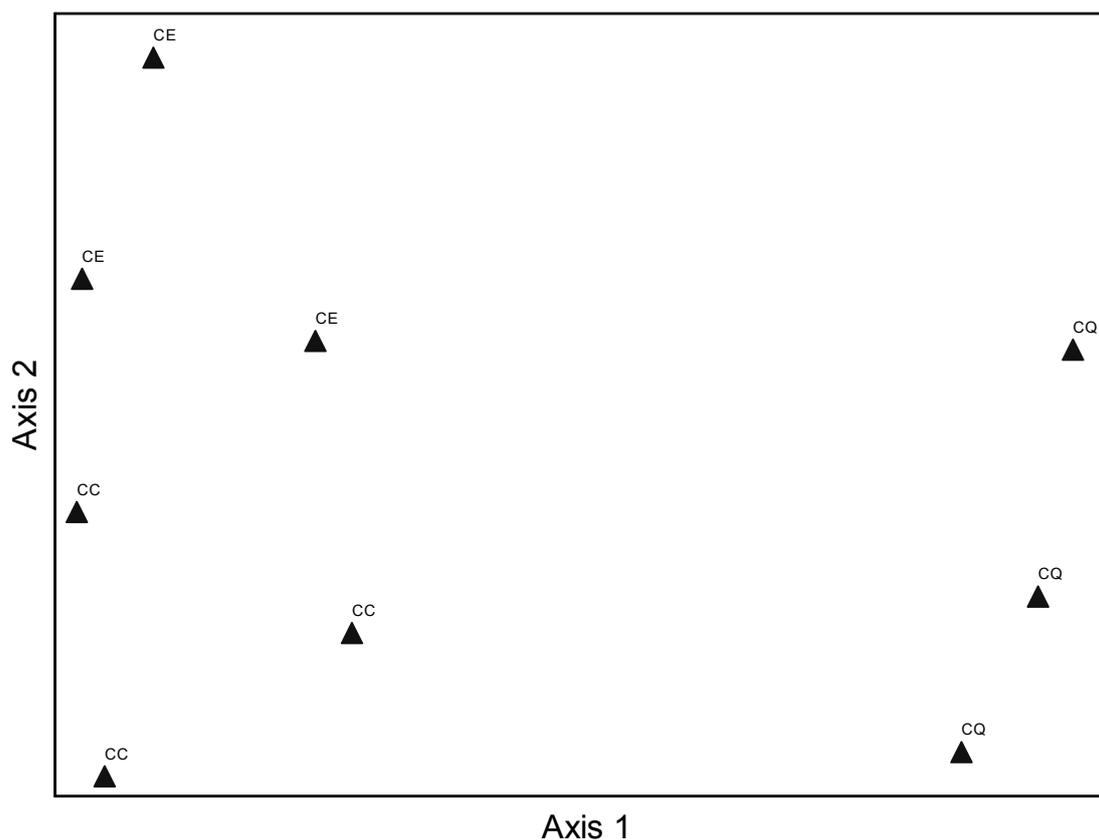


Figura 20 – Ordenação de NMS dos perfis de DGGE de bactérias desnitrificantes (NirK) para os tratamentos Cerrado (CE, 1), Cana Crua (CC, 2) e Cana Queimada (CQ, 3), nas três repetições

O eixo 2 discrimina de forma mais tênue a área de cana crua da área de Cerrado sem, contudo, discriminá-las da área de cana queimada, já o eixo 1 discrimina de forma marcante a área de cana queimada das demais.

A segregação sugere que para a comunidade de desnitrificantes a prática da queima produziu condições que funcionam como fatores de alta segregação da comunidade, de modo que esse elemento se torna mais forte que a mudança na cobertura vegetal da área.

5.8 Relação das alterações nas comunidades microbianas com os diversos atributos do solo.

Para entender que atributos estão envolvidos com a mudança da comunidade microbiana foi rodada uma análise de NMS com a matriz quantitativa obtida com o perfil do DGGE e com uma matriz construída com todos os atributos físico-químicos apresentados nesse trabalho (33 atributos). A Figura 21 a seguir apresenta a ordenação de todos os atributos que tiveram uma correlação altamente significativa ($p < 0,01$) com a mudança na estrutura da comunidade de Eubactérias.

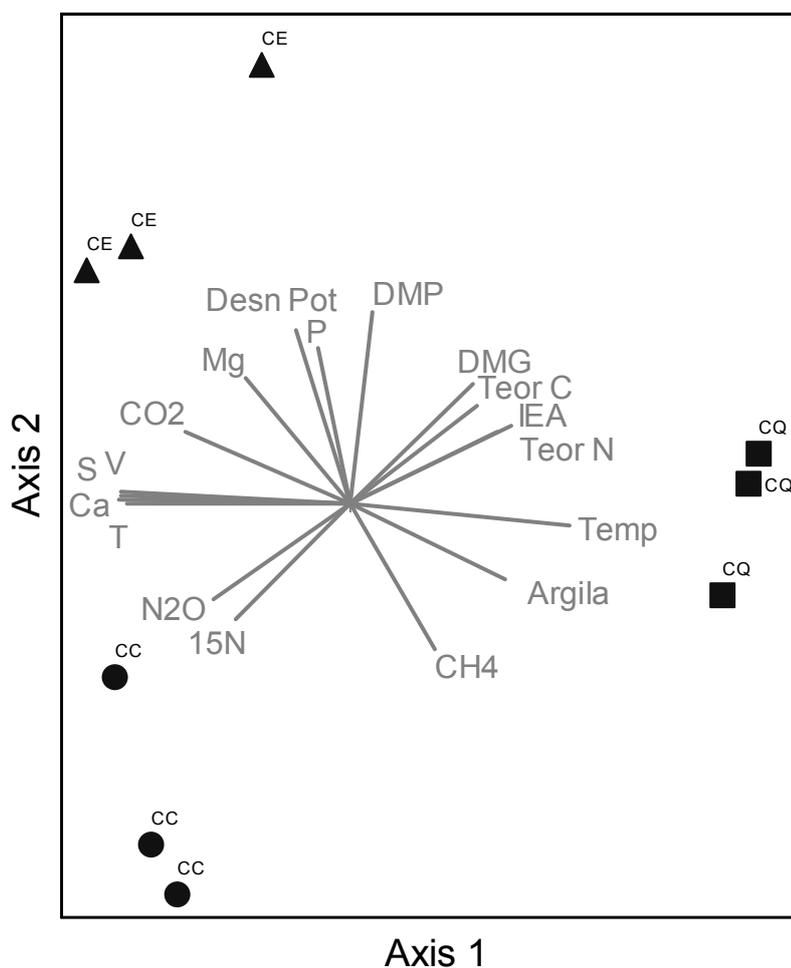


Figura 21: Ordenação de NMS dos perfis de DGGE de bactérias totais (rDNA 16S) e diferentes atributos do solo (0-10 cm) para os tratamentos Cerrado (CE, 1), Cana Crua (CC, 2) e Cana Queimada (CQ, 3), nas três repetições

Pela análise dos dados, pode ser verificado que diversos fatores estão relacionados com a mudança na estrutura da comunidade total. As alterações da estrutura da comunidade bacteriana na área de Cerrado parecem estar associadas ao alto teor de fósforo (P) e magnésio (MG) encontrado na área, assim como a alta taxa de desnitrificação potencial, salientando o papel fundamental da comunidade microbiana no processo de desnitrificação. Embora pareçam dicotômicos os dados de fertilidade para uma área nativa de Cerrado, manchas de basalto no Bioma podem dar origem a solos eutróficos, ricos inclusive em P (BARBOSA, 2006).

Os principais fatores que estão envolvidos na diferenciação da estrutura da comunidade bacteriana total da área de cana queimada das demais áreas, foram a elevação da temperatura (Temp) associada ao decréscimo no valor de soma de bases (S), o grau de saturação de bases (V), cálcio (Ca) e a capacidade de troca catiônica (T) nessa área. Os dados ainda sugeriram que essas mudanças podem estar relacionadas com a diminuição dos fluxos médios de N_2O e principalmente de CO_2 .

Já na área de cana crua os fatores mais relacionados foram a diminuição dos teores de carbono (Teor C), de nitrogênio (Teor N) e da quebra das classes de agregados maiores, evidenciada pela redução nos índices de agregação do solo (DMP, DMG e IEA). Os maiores valores de $\delta^{15}N$ observados na área de cana crua também parecem estar relacionados com a mudança na comunidade microbiana, que provavelmente alterou a ciclagem do nutriente nessa área, conforme discutido anteriormente.

De uma forma geral, os fluxos médios dos três gases estão relacionados com estrutura da comunidade geral, as correlações sugerem maior relação dos

fluxos de CH_4 e CO_2 com a estrutura da comunidade bacteriana presente na área de Cerrado, enquanto os fluxos de N_2O estão mais relacionados com a estrutura da comunidade bacteriana da área de cana crua.

Os dados estão de acordo com verificados por Aboim et al. (2008), que verificaram influência principalmente do T, S, V, Ca, K, e teor de carbono orgânico, assim como do teor de argila e dos índices de estabilidade de agregados como fatores envolvidos na segregação da comunidade microbiana de áreas agrícolas para áreas de Mata Atlântica nativas em Bom Jardim (RJ).

A mesma análise de NMS discutida anteriormente foi rodada com a matriz com a matriz quantitativa obtida com o perfil do DGGE das nitrificantes (Figura 22). Neste caso um número menor de fatores foi correlacionado com as modificações observadas. Aparentemente, o único fator que influenciou mais fortemente o grupo de nitrificantes da área com cana crua, foi o maior valor da relação C:N, principalmente no caso do ponto amostral que ficou mais isolado. Se esse ponto for encarado como um fora da regra, nota-se que as variáveis usadas parecem não segregar de forma expressiva a cana crua, embora esse tratamento permanecesse entre as duas outras áreas (cana crua e Cerrado).

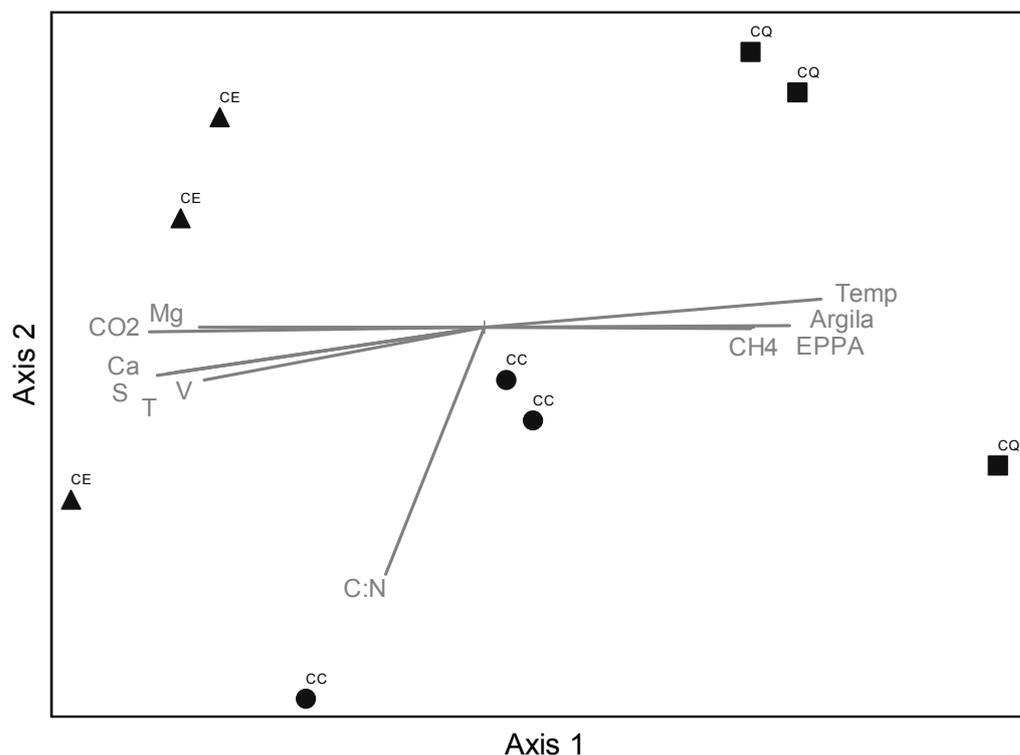


Figura 22 - Ordenação de NMS dos perfis de DGGE de bactérias nitrificantes (amoA) e diferentes atributos do solo (0-10 cm) para os tratamentos Cerrado (CE), Cana Crua (CC) e Cana Queimada (CQ), nas três repetições

Já a clara distinção entre a comunidade bacteriana presente na área de Cerrado e na área de cana queimada parece estar relacionada com o alto teor de magnésio e baixo valor de espaço poroso preenchido por água (EPPA) e teor de argila no Cerrado, associado à alta temperatura e baixos valores de soma de bases, capacidade de troca catiônica, cálcio e grau de saturação de bases na área de cana queimada. Os fluxos médios de CO_2 e CH_4 também estão correlacionados com as transformações sofridas na estrutura de nitrificantes. Como o nitrogênio é fundamental na dinâmica da matéria orgânica, as bactérias associadas ao ciclo do N possuem forte influência respiração da matéria orgânica, e portanto, nos fluxos de CO_2 e CH_4 .

Assim como na comunidade de nitrificantes, aparentemente nenhum dos fatores testados possui forte correlação com a modificação observada na estrutura de desnitrificantes da área de cana crua (Figura 23).

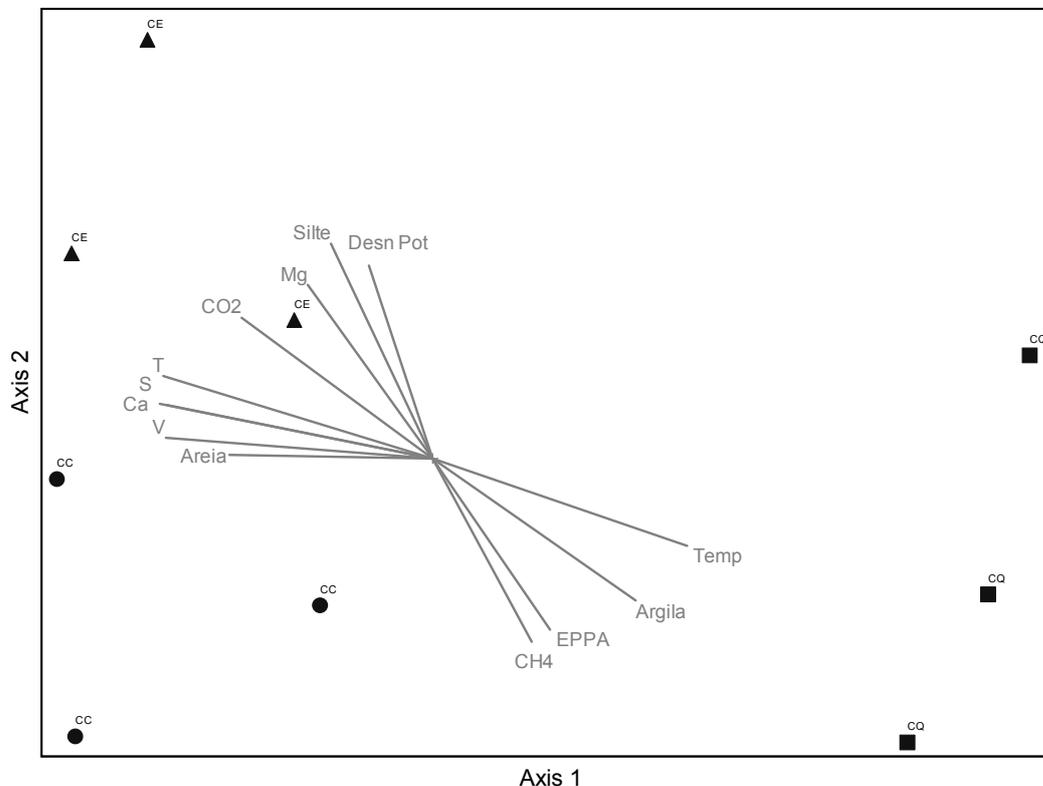


Figura 23: Ordenação de NMS dos perfis de DGGE de bactérias desnitrificantes (nirK) e diferentes atributos do solo (0-10 cm) para os tratamentos Cerrado (CE), Cana Crua (CC) e Cana Queimada (CQ), nas três repetições

Na área de cana queimada, os fatores principais envolvidos no processo foram os mesmos discutidos anteriormente, com a inclusão do teor de areia, cujo baixo valor parece estar envolvido na modificação da estrutura da comunidade. Isso provavelmente deve estar relacionado com a oxigenação do solo (fator importante no processo de desnitrificação) que tenderam a ser menor em áreas com baixo teor de areia (ROBERTSON; BLEDSOE; COLEMAN, 1999). A comunidade de nitrificantes presentes no Cerrado também parece estar sofrendo forte influência da granulometria da área, pois

tanto o teor de silte quanto o teor de argila estão correlacionados com a mudança nessa comunidade, além do alto valor de magnésio e baixo valor de espaço poroso preenchido por água.

O valor mais alto do potencial de desnitrificação encontrado no Cerrado foi altamente correlacionado com a estrutura da comunidade bacteriana desnitrificante, como já era esperado.

Curiosamente, as mudanças nas taxas líquidas de mineralização e nitrificação não correlacionaram significativamente com as transformações das comunidades de nitrificantes e desnitrificantes. Provavelmente porque o padrão de modificações das taxas não seguiu o mesmo das comunidades. As taxas líquidas apresentaram diferenças significativas apenas da área de Cerrado em comparação às demais áreas, que não diferiram entre si, já a estrutura das comunidades microbianas separou bem as áreas de cana crua e queimada. Sugerindo que outros fatores, que não a estrutura da microbiota específica (teores de N, pH, entre outros), estão controlando mais fortemente esses processos.

A mesma análise apresentada anteriormente nas Figuras 18, 19 e 20, que foi feita com a matriz obtida através do perfil de bandas do DGGE foi feita com os atributos físico-químicos do solo, nas três repetições utilizadas nas análises de NMS (Figura 24).

A maioria dos parâmetros analisados se encontra no meio na ordenação, e poucos parâmetros se aproximaram mais de uma área em específico, como é o caso, por exemplo, da desnitrificação potencial que é muito mais evidente no Cerrado, ou os teores de sódio, nitrato e potássio, que são mais próximos da área com cana crua. Isso mostra que a maioria dos atributos estudados são relativamente semelhantes para todas as áreas, e que separação é provocada pela ação de apenas alguns deles, ou pela somatória de pequenas variações em conjunto.

A mesma segregação básica, em três áreas distintas e equidistantes encontrada na ordenação dos atributos físico-químicos foi verificada na ordenação da comunidade bacteriana total. Isso sugere que o fator direcional da segregação da comunidade bacteriana está justamente no conjunto dos parâmetros.

Fica evidente que esse comportamento explica a mudança na estrutura da comunidade bacteriana como um todo, no entanto, ao se tratar de grupos específicos, o conjunto de fatores não justificou totalmente as modificações já que agrupou as comunidades de formas diferentes e difusas. Se os atributos físico-químicos do solo fossem os únicos a dirigir o processo de estruturação de uma comunidade bacteriana, era esperado que todas as repetições se agrupassem bem proximamente, assim como ocorreu com os fatores físico-químicos.

A hipótese mais provável, então, é que existe um fator biológico envolvido, principalmente no que diz respeito às interações de diferentes grupos bacterianos. A Tabela 10 a seguir trás os dados de correlação entre diferentes matrizes, e dá suporte a essa teoria.

Tabela 10 - Teste padronizado de Mantel (r) das relações entre as diferentes matrizes geradas, tanto através dos perfis de DGGE quanto dos atributos do solo

	16S	Nitrificantes	Desnitrificantes	Atributos do solo
16S	1	0,57***	0,68****	0,64***
Nitrificantes		1	0,70****	0,45**
Desnitrificantes			1	0,63***

**** $p < 0.0001$ *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$;

Como pode ser observada, a correlação das comunidades com os atributos do solo é altamente significativa, principalmente para as comunidades totais e desnitrificantes. Contudo, uma correlação também altamente significativa foi verificada entre uma comunidade bacteriana e outra. As correlações das comunidades de nitrificantes e desnitrificantes com a comunidade total eram esperadas, haja vista que elas são uma parte da comunidade total, logo, mudanças em uma tendem a afetar a outra. No entanto, os dados mostram que o maior valor de correlação encontrado foi da comunidade de desnitrificantes com a de nitrificantes ($r=0,7$). Essa correlação foi maior do que qualquer outro fator, sugerindo a grande interdependência que os diferentes grupos de bactérias do ciclo do N possuem entre si, além ser o provável motivo para as variações encontradas entre os pontos de amostragem de uma mesma área.

Esse estudo trouxe informações do quadro geral de como a utilização do cerrado para fins agrícolas, e mais recentemente para o cultivo de cana-de-açúcar, refletiu nos diferentes atributos do solo. Ainda mais importante, de como essas alterações se inter-relacionam, e qual o papel da microbiota como mediadoras das transformações, sendo causa/conseqüência da ciclagem e

dinâmica de nutrientes no bioma. Contudo, os dados são baseados em apenas uma época amostral, inviabilizando inferências sobre dinâmica ao longo do ano. Dessa forma, estudos compreendendo várias épocas do ano e contemplando com um maior número de áreas são os caminhos necessários para o aprofundamento da pesquisa e maior entendimento de todo o processo.

6 CONCLUSÕES

- ✓ A utilização do Cerrado para agricultura provocou alterações significativas em diversos fatores físico-químicos do solo. Os cultivos de cana-de-açúcar de manejos com queima e sem queima provocaram modificações distintas, resultando em áreas com características bem diferentes entre si.
- ✓ As áreas não apresentaram diferenças significativas nas emissões de dióxido de carbono e óxido nitroso em nível de tratamento, mas foram verificadas diferenças significativas em escala espacial em relação à linha de plantio nas áreas com cana, devido à influência positiva da região rizosférica.
- ✓ Os fluxos de CH_4 e N_2O foram muito baixos nas áreas de Cerrado e cana estudadas;
- ✓ A técnica de DGGE foi eficiente na detecção de modificações da estrutura de bactérias totais, nitrificantes e desnitrificantes, e mostrou forte influência do uso e manejo do solo nessas comunidades.
- ✓ As comunidades de bactérias totais e funcionais responderam de formas diferentes às mudanças no solo. A comunidade bacteriana total segregou-se em três grupos bem distintos. A comunidade de nitrificantes mostrou uma diferença mais forte do Cerrado com a área de cana queimada, e uma estrutura intermediária na área de cana queimada. Já a comunidade de desnitrificantes mostrou maior semelhança do Cerrado com a área de cana crua, e ambas bem distantes da área de cana queimada.
- ✓ Os fatores físico-químicos em conjunto, especialmente àqueles relacionados à agregação do solo, mineralogia, fertilidade e temperatura direcionaram as mudanças na estrutura da comunidade bacteriana total do solo.

- ✓ As mudanças na estrutura dos grupos específicas de bactérias nitrificantes e desnitrificante, contudo, não foram explicadas somente pelo padrão de mudanças físico-químicas. Os dados mostraram forte correlação de uma comunidade com a outra, sendo, portanto, o fator biológico de inter-relações muito importante na estruturação dessas comunidades.
- ✓ Os fluxos dos gases provenientes do solo, o potencial de desnitrificação e a ciclagem de C e N de uma forma geral, correlacionaram com as mudanças nas comunidades de bactérias totais e/ou funcionais de nitrificantes e desnitrificantes, mostrando influência da microbiota nesses fatores. No entanto as taxas líquidas de mineralização e nitrificação do N do solo não correlacionaram, sugerindo maior influência de outros fatores.
- ✓ Estudos mais abrangentes que compreendam diversas áreas e eventos de amostragem ao longo do ano são necessários para um entendimento ainda mais completo da dinâmica biogeoquímica do solo de Cerrado sob cultivo de cana.

REFERÊNCIAS

- ABOIM, M. C. R.; BARBOSA, J. C.; COUTINHO, H. L. C.; ROSADO, A. S. **Avaliação de diversidade microbiana em amostras de solos – Técnica do PCR/DGGE (Protocolo Laboratorial)**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2004.
- ABOIM, M. C. R.; COUTINHO, H. L. C.; PEIXOTO, R. S.; BARBOSA, J. C.; ROSADO, A. S. Soil bacterial community structure and soil quality in a slash-and-burn cultivation system in southeaster Brazil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 38, p. 100-108, 2008.
- ALBUQUERQUE, J. A.; ARGENTON, J.; BAYER, C.; WILDNER, L. P.; KUNTZE, M. A. G. Relação de atributos do solo com a agregação de um sistema de prepare e plantas de verão para cobertura do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, p. 415-429, 2005.
- ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.). **Methods in applied soil microbiology and biogeochemistry**. London, Academic Press, 1995. 576 p.
- ALMEIDA, D. L.; SANTOS, G. A.; DE-POLLI, H.; CUNHA, L. H.; FREIRE, L. R.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; PEREIRA, N. N. C.; EIRA, P. A.; BLOISE, R. M.; SALEK, R. C. **Manual de adubação para o Estado do Rio de Janeiro**. Itaguaí: Ed. Universidade Rural, 1988. 179 p.
- AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. Phylogenetic Identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 59, p. 143-169, 1995.
- ANFAVEA. Associação Nacional dos Fabricantes de Veículos Automotores, 2008 apud IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA – **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – Dezembro, 2008b**.
- BALOTA, E. L.; COLOZZI FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; DICK, R. P. Long-term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization in a Brazilian Oxisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 77, p. 137-145, 2004.
- BARBOSA, L. M. (Coord.) **Manual para recuperação de áreas degradadas do estado de São Paulo: matas ciliares do interior paulista**. São Paulo, Instituto de Botânica, 2006, 168 p.
- BARRETO, R., MADARI, B.E., MADDOCK, J.E.L., MACHADO, P.L., TORRES, E., FRANCHINI, J., COSTA, A.R. The impact of soil management on aggregation, carbon stabilization and carbon loss as CO₂ in surface layer of Rhodic Ferralsol in Southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 132, p. 243-251, 2009.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo – ecossistemas tropicais e subtropicais 2 ed.** Porto Alegre, Metropole, 2008. 654 p.

BENGTSSON, G.; BENGTSON, P.; MANSSON, K. Gross nitrogen mineralization-, immobilization-, and nitrification rates as function of soil C/N ratio and microbial activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 143-154, 2003.

BERNOUX, M.; ARROUAYS, D.; CERRI, C.; BOURENNANE, H. Modeling vertical distribution of carbon in Oxisols of the Western Brazilian Amazon (Rondônia). **Soil Science**, New Brunswick, v. 163, n. 12, p. 941-951, 1998.

BOSSIO, D. A.; GIRVAN, M. S.; VERCHOT, L.; BULLIMERE, J.; BORELLI, T.; ALBRECHT, A.; SCOW, K. M.; BALL, A. S.; PRETTY, J. N.; OSBORN, A. M. Soil microbial community response to land use change in a agricultural landscape of western Kenya. **Microbial Ecology**, New York, v. 49, p. 50-62, 2005.

BOTHE, H.; JOST, G.; SCHLOTTER, M.; WARD, B. B.; WITZEL, K. P. Molecular analysis of ammonia oxidation and denitrification in natural environments. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 24, p. 673-690, 2000.

BOWMANN, A. F. Nitrogen oxides and tropical agriculture. **Nature**, London, v. 392, p. 866-867, 1998.

BRAMLEY, R. G. V.; ELISS, N.; NABLE, O. R.; GARSIDE, A. L. Changes in soil chemical properties under long-term sugar cane monoculture and their possible role in sugar yield decline. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 34, p. 967-984, 1996.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Secretaria de Petróleo, Gás Natural e Combustíveis Renováveis - Departamento de Combustíveis Renováveis. **Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis**, Brasília, n. 12, dez. 2008. Disponível em:
http://www.mme.gov.br/spg/galerias/arquivos/publicacoes/boletim_mensal_combustiveis_renovaveis/Boletim_DCR_nx_012_-_dezembro_de_2008.pdf. Acesso em: 20 out. 2009.

BRAY, J. R.; CURTIS, J. T. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. **Ecological Monographs**, Durham, v. 27, p. 325-349, 1957.

BRITO, L. F.; MARQUES JÚNIOR, J.; PEREIRA, T. G.; SOUZA, Z. M.; SCALA JUNIOR, N. Soil CO₂ emission of sugarcane fields as affected by topography. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.66, n.1, p.77-83, 2009.

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

BUSTAMANTE, M. M. C.; MEDINA, E.; ASNER, G. P.; NARDOTO, G. B.; GARCIA-MONTIEL, D. C. Nitrogen cycling in tropical and temperate savannas. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 79, p. 209-237, 2006.

BUSTAMANTE, M. M. C.; MARTINELLI, L. A.; SILVA, D. A.; CAMARGO, P. B.; KLINK, C. A.; DOMINGUES, T. F.; SANTOS, R. V. N-15 natural abundance in woody plants and soils of central Brazilian savannas (Cerrado). **Ecological Applications**, Washington, v. 14, n. 4, p. 200-213, 2004.

CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1986. 94 p. (Boletim Técnico, 106).

CAMPOS, B. C.; REINERT, D. J.; NICOLODI, R.; RUEDELL, J.; PETRERE, C. Estabilidade estrutural de um Latossolo Vermelho-Escuro distrófico após sete anos de rotação de culturas e sistemas de manejo de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 19, n. 1, p. 121-126, 1995.

CAMPOS, D. C. **Potencialidade do sistema de colheita sem queima da cana-de-açúcar para o seqüestro de carbono**. 2003. 103 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

CARDENAS, E.; TIEDJE, J. M. New tools for discovering and characterizing microbial diversity. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v. 19 p. 544-549, 2008.

CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. 360 p.

CASTALDI, S.; ARAGOSA, D. Factors influencing nitrification and denitrification variability in a natural and fire-disturbed Mediterranean shrubland. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 36, p. 418-425, 2002.

CASTALDI, S.; ERMICE, A.; STRUMIA, S. Fluxes of N₂O and CH₄ from soils of savannas and seasonally-dry ecosystems. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 33, p. 401-415, 2006.

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

CASTRO, R. A. O. Queimadas em canaviais paulistas: conseqüências econômicas e sociais da erradicação imediata e uma proposta alternativa. **Revista de Direito**, Valinhos, v. 11, n. 13, p. 87-104, 2008. Disponível em: <http://sare.unianhanguera.edu.br/index.php/rdire/article/viewFile/47/44>. Acesso em: 15 nov. 2009.

CASSEL, D. K.; LAL, R. Soil properties of the tropics: common beliefs and management restraints. In: LAL, R.; SANCHEZ, P. (Ed.). **Myths and science of soils in the tropics**. Madison: SSSA, 1992. P. 61-89. (Special Publication, 29).

CENTURION, J. F.; FREDDI, O. S.; ARATANI, R. G.; METZNER, A. F. M.; BEUTLER, A. N.; ANDRIOLI, I. Influência do cultivo da cana-de-açúcar e da mineralogia da fração argila nas propriedades físicas de Latossolos Vermelhos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 199-209, 2007.

CERRI, C. C.; CERRI, C. E. P. Agricultura e aquecimento global. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 40-44, 2007.

CERRI, C. C.; EDUARDO, B. P.; PICCOLO, M. C. Use of stable isotopes in soil organic matter studies. In: IAEA. **Stable isotopes in plant nutrition, soil fertility and environmental studies**. Vienna, 1991a. p. 247-259.

CERRI, C. C.; FELLER, C.; CHAUVEL, A. Evolução das principais propriedades de um latossolo vermelho escuro após desmatamento e cultivo por 12 e 50 anos com cana-de-açúcar. **Cahiers ORSTOM. Serie Pedologie**, Paris, v. 26, n. 1, p. 37-50, 1991b.

CERRI, C. E. P.; SPAROVEK, G.; BERMOUX, M.; EASTERLING, W. E.; MELILLO, J. M.; CERRI, C. C. Tropical agriculture and global warming impacts and mitigation option. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 64, n. 1, p. 83-99, 2007.

CHRISTENSEN, B. T. **Organic matter in soil** - structure, function and turnover. Tjele: Plant Production, 2000. 95 p, (DIAS Report, 30).

COLETTA, L. D.; NARDOTO, B. G.; LATANSIO-AIDAR, S. R.; ROCHA, H. R.; AIDAR, M. P. M.; OMETTO, J. P. H. B. Isotopic view of vegetation and carbon and nitrogen cycles in a Cerrado ecosystem southeastern Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 4, p. 467-475, 2009.

CONSERVATION INTERNATIONAL. **Biodiversity hotspots**: Cerrado. Arlington, 2007. Disponível em: <http://www.biodiversityhotspots.org/xp/hotspots/Cerrado/Pages/default.aspx>. Acesso em: 13 mar. 2008.

COSTA-JÚNIOR, C. **Estoque de carbono e nitrogênio e agregação do solo sob diferentes sistemas de manejo agrícola no Cerrado, em Rio Verde (GO)**. 2008. 139 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

COUTINHO, L. M. O conceito de Cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 1, p. 17-23, 1978.

COUTINHO, L. M. **Cerrado**. São Paulo: IB/USP, 2000. Disponível em: <http://eco.ib.usp.br/Cerrado/>. Acesso em: 13 mar. 2008.

D'ANDREA, A. F.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; GUILHERME, L. R. G. Estoque de carbono e nitrogênio e formas de nitrogênio mineral em um solo submetido a diferentes sistemas de manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 179-186, 2004.

DAVIDSON, E. A.; BUSTAMANTE, M. M. C.; SIQUEIRA PINTO, A. Emissions of nitrous oxide and nitric oxide from soils of native and exotic ecosystems of the Amazon and Cerrado regions of Brazil. In: INTERNATIONAL NITROGEN CONFERENCE ON SCIENCE AND POLICY, 2., 2001, Potomac. **Optimizing nitrogen management in food and energy production and environmental protection**; proceedings... Berkshire: The Scientific World, 2002. p. 312-319.

DENEF, K.; SIX, J.; BOSSUYT, H.; FREY, S. D.; ELLIOTT, E. T.; MERCKX, R.; PAUSTIAN, K. Influence of dry-wet cycles on the interrelationship between aggregates particulate organic matter, and microbial community dynamics. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 1599-1611, 2001.

DENEF, K.; ZOTARELLI, L.; BODDEY, R. M.; SIX, J. Microaggregate-associated carbon as a diagnostic fraction for management-induced changes in soil organic carbon in two Oxisols. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 39, p. 1165-1172, 2007.

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

EICHNER, C. A.; ERB, R. W.; TIMMIS, K. N.; WAGNER-DÖBLER, I. Thermal gradient gel electrophoresis analysis of bioprotection from pollutants shocks in the activated sludge microbial community. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 65, p. 102-109, 1999.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Solos, 1999. 412 p.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise do solo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, CNPS, 1997. 212 p.

EMBRAPA. **Embrapa Cerrados: conhecimento, tecnologia e compromisso ambiental**. 2. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. 43 p.

ENWALL, K.; HALLIN, S. Comparison of T-RFLP and DGGE techniques to assess denitrifier community composition in soil **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 48, p. 145-148, 2009.

FARQUHAR, G. D.; EHLERINGER, J. R.; HUBICK, K. T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 503-537, 1989.

FAUSTO, B. **História do Brasil**. 12. ed. São Paulo: EDUSP, 2006.

FERREIRA, M. M.; FERNANDES, B.; CURI, N. Mineralogia da fração argila e estrutura de latossolos da região sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, p. 507-514, 1999.

FIGUEIREDO, C. C.; RAMOS, M. L. G.; TOSTES, R. Propriedades físicas e matéria orgânica de um Latossolo Vermelho sob sistemas de manejo e Cerrado nativo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, n. 3, p. 24-30, 2008.

GHINI, R. Impacto de mudanças globais sobre a microbiota terrestre. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Microbiologia ambiental**. 2 ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. 647 p.

GOES, G. B.; GREGGIO, T. C.; CENTURION, J. F.; BEUTLER, N.; ANDRIOLI, I. Efeito do cultivo da cana-de-açúcar na estabilidade de agregados e na condutividade hidráulica do solo. **Irriga**, Botucatu, v 10, n. 2, p. 116-122, 2005.

GOLCHIN, A.; BALDOCK, J. A.; OADES, J. M. A model linking organic matter decomposition, chemistry, and aggregate dynamics. In: LAL, R.; KIMBLE, J. M.; FOLLETT, R. F.; STEWART, B. A. (Ed.). **Soil processes and the carbon cycle**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 245-266. (Advances in Soil Science).

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

HOLBEN, W. E.; FERRIS, K. P.; KETTUNEN, A.; APAJALAHTI, J. H. A. GC fractionation enhances microbial community diversity assessment and detection of minority populations of bacteria by denaturing gradient gel electrophoresis. **Applied Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 70, p. 2263-2270, 2004.

HE, Z.; GENTRY, T. J.; SCHADT, C. W.; WU, L.; LIEBICH, J.; CHONG, S.C.; HUANG, Z.; WU, W.; GU, B.; JARDINE, P.; CRIDDLE, C.; ZHOU, J. Geochip: a comprehensive microarray for investigating biogeochemical, ecological and environmental processes. **The ISME Journal**, London, v. 1, p. 67-77, 2007

HOLT, J. A.; MAYER, R. J. Changes in microbial biomass and protease activities of soil associated with long-term sugar cane monoculture. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 27, p. 127-131, 1998.

HUTSCHINSON, G. L.; MOSIER, A. R. Improved soil cover method for field measurement of nitrous oxide fluxes. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 45, p. 311-316, 1982.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **Distribuição espacial da atividade canavieira nos biomas brasileiros – 2005**. Rio de Janeiro, 2005. 1 mapa. Escala 1:5.000.000. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/default_prod.shtm. Acesso em: 10 Dez. 2009.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **Produção agrícola municipal 2006**. Rio de Janeiro, 2007. (Comunicação Social, 17 out. 2007). Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=998. Acesso em: Set. 2009

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **@Estados**. Goiás. Rio de Janeiro, 2008a. Disponível em: <http://www.ibge.com.br/estadosat/temas.php?sigla=go&tema=lavouratemporaria2007>. Acesso em: 10 set. 2009.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola** – Dezembro. Rio de Janeiro, 2008b. Disponível em: www.ibge.com.br Acesso em: Out. 2009.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola** – Julho. Rio de Janeiro, 2009a. Disponível em: www.ibge.com.br Acesso em: Out. 2009.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola** – Maio. Rio de Janeiro, 2009b. Disponível em: www.ibge.com.br Acesso em: Out. 2009.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. **IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories**. Revised 1996, Bracknell, UK, 1997. 457 p.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. Technical summary. In: HOUGHTON, J. T.; DING, Y.; GRIGGS, J. D.; NOUGER, M.; VAN DER LINDEN, P. J.; DAI, X.; MASKELL, K.; JOHNSON, C. A. (Ed.). **Climate change 2001: The Scientific Basis**. Contributions of Working Group I. of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge University Press, 2001.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. In: PARRY, M. L.; CANZIANI, O. F.; PALUTIKOF, J. P.; VAN DER LINDEN, P. J.; HANSON, C. E. (Ed.). **Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability**. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment. Cambridge: Cambridge University Press, 2007. 976 p.

IWAMOTO, T.; TANI, K.; NAKAMURA, K.; SUZUKI, Y.; KITAGAWA, M.; EGUCHI, M.; NASU, M. Monitoring impact of in situ biostimulation treatment on groundwater bacterial community by DGGE. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 32, p. 129-141, 2000.

KELLER, M.; KAPLAN, W. A.; WOFSY, S. C.; COSTA, J. M. Emissions of N₂O from tropical forest soil: response to fertilization with NH₄⁺, NO₃⁻ and PO₄⁻³. **Journal of Geophysical Research**, Washington, v. 93, p. 1600-1604, 1988.

KEMPER, W. D.; ROSENAU, R. C. Aggregate stability and size distribution. In: KLUTE, A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Part I. Physical and mineralogical methods. Madison: SSSA, 1986. p. 425-442. (Agronomy Monograph, 9).

KIEHL, J. E. **Manual de edafologia: relações solo-planta**. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1979. 264p.

KOWALCHUK, G. A.; BODELIER, P. L. E.; HEILIG, G. H. J.; STEPHEN, J. R.; LAANBROEK, H. J. Community analysis of ammonia-oxidising bacteria, in relation to oxygen availability in soils and root oxygenated sediments, using PCR, DGGE and oligonucleotide probe hybridisation. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 27, p. 339-350, 1998.

KOWALCHUK, G. A.; STEPHEN, J. R.; Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 55, p. 485-529, 2001.

KRISTENSEN, H. L.; DEBOSZ, K.; McCARTY, G. W. Short-term effects of tillage on mineralization of nitrogen and carbon in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 979-986, 2003.

KRUSKAL, J. B. Nonmetric multidimensional scaling: a numerical method. **Psychometrika**, New York, v. 29, p. 115-129, 1964.

KULSHRESHTHA, S. N.; JUNKINS, B.; DESJARDINS, R. Prioritizing greenhouse gas emission mitigation measures for agriculture. **Agricultural Systems**, Barking Essex, v. 66, p. 145-166, 2000.

LA SCALA JUNIOR, N.; BOLONHEZI, D.; PEREIRA, G. T. Short-term soil CO₂ emission after conventional and reduced tillage of a no-till sugar cane area in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 91, p. 244-248, 2006.

LAL, R. Global potential of soil carbon sequestration to mitigate the greenhouse effect. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 22, p. 151-184, 2003.

LEITE R. C. **Pró-álcool** - A Única alternativa para o futuro. 3. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1990.

LINN D. M.; DORAN J. W. Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and non-tilled soils. **Soil Science Society of America Journal** v. 48 p. 1267-1272, 1984.

LOVELOCK, J. E. A sensitive detector for gas chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 1, p. 35-46, 1958.

MACEDO, I. C.; SEABRA, J. E. A.; SILVA, J. E. A. R. Green house gases emissions in the production and use of ethanol from sugarcane in Brazil: The 2005/2006 averages and a prediction for 2020. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 32, p. 582-595, 2008.

MACEDO, J. Os Cerrados brasileiros: Alternativa para a produção de alimentos no limiar do século XXI. **Revista de Política Agrícola**, São Paulo, v. 4, n. 2, p. 11-24, 1995.

MARCHETTI, A. D. **Caracterização dos compartimentos orgânicos de carbono e Atividade microbiológica do solo nos sistemas de cultivo em plantio direto com cobertura vegetal no Cerrado**. 2005. 109 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2005.

MARIN, F. R. **Cana-de-açúcar**. Características. Brasília: Agência de Informação Embrapa, 2007. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_20_3112006152934.html. Acesso em: 30 out. 2009.

MARTINELLI, L.A.; PICCOLO, M.C.; TOWNSEND, A.R.; VITOUSEK, P.M.; CUEVAS, E.; MCDOWELL, W.H.; ROBERTSON, G.P.; SANTOS, O.C.; TRESEDER, K. Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forests. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 46, p. 45-65, Jul. 1999.

MARYHOFER, S.; MIKOVINY, T.; WALDHUBER, S.; WAGNER, A. O.; INNEREBNER, G.; FRANKE-WHITTLE, I. H.; MÄRK, T. D.; HANSEL, A.; INSAM, H. Microbial community related to volatile organic compound (VOC) emission in household biowaste. **Environmental Microbiology**, New York, v. 8, n. 11, p. 1960-1970, 2006.

MEIER, E. A.; THORBURN, P. J.; PROBERT, M. E.; Occurrence and simulation of nitrification in two contrasting sugarcane soils from the Australian wet tropics. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 44, p. 1-9, 2006.

MEIRELES, E. J. L. **Intensificação do efeito estufa associada a aumento nas concentrações dos gases CH₄, N₂O e CO₂** 1994. 125 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

MELILLO, J. M., J. D. ABER, A. E. LINKINS, A. RICCA, B. FRY AND K. J. NADELHOFFER. Carbon and nitrogen dynamics along the decay continuum: Plant litter to soil organic matter. **Plant and Soil**, Dordrecht v. 115, p.189-198, 1989.

MIRANDA, A. C.; MIRANDA, H. S.; LLOYD, J.; GRACE, J.; FRANCEY, R. J.; MCINTYRE, J. A.; MEIR, P.; RIGGAN, P.; LOCKWOOD, R.; BRASS, J. Fluxes of Carbon, water and energy over Brazilian Cerrado: an analysis using eddy covariance and stable isotopes. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 20, p. 315-328, 1997.

MORAIS, M.; TRIVELIN, P. C. O.; LAMBAIS, M. R. Estrutura e comunidades de bactérias sem solo sob cultivo de cana-de-açúcar com doses de nitrogênio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 31., 2007, Gramado. **Anais...** Gramado: SBCS, 2007. 1 CD-ROM.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e biotecnologia do solo**. 2. ed. Lavras: Ed. UFLA, 2006. 729 p.

MUMMEY, D. L.; STAHL, P. D. Analysis of soil whole- and inner-microaggregate bacterial communities. **Microbial Ecology**, New York, v. 48, p. 41-50, 2004.

MUMMEY, D.; HOLBEN, W.; SIX, J.; STAHL, P. Spatial stratification of soil bacterial populations, in aggregates of diverse soils. **Microbial Ecology**, New York, v. 51, p. 404-411, 2006.

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

MYERS R. M.; FISCHER S. G.; LERMAN L. S.; MANIATIS T. Nearly all single base substitutions in DNA fragments joined to a GC-clamp can be detected by denaturing gradient gel electrophoresis. **Nucleic Acids Research**, London, v. 13, p. 3131-3145, 1985.

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

NALDHOFFER, K. J.; FRY, B. Nitrogen isotope studies in forested ecosystems. In: LAJTHA, K.; MICHENER, R. H. (Ed.). **Stable isotope in ecology and environmental science**. Oxford: Blackwell, 1994. p. 22-44.

NARDOTO, G. B.; BUSTAMANTE, M. M. C. Effects of fire on soil nitrogen dynamics and microbial biomass in savannas of central Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 8, p. 955-962, 2003.

NARDOTO, G.B. **Abundância natural de ¹⁵N na Amazônia e Cerrado – implicações para a ciclagem do nitrogênio**. 100p. Tese (Doutorado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

NATELHOFFER, K. J.; FRY, B. Controls on natural nitrogen-15 and carbon-13 abundance in forest soil organic matter. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 52, p. 1633-1640, 1988.

NEILL, C.; PICCOLO, M. C.; STEUDLER, P. A.; MELILLO, J. M.; FEIGL, B. J.; CERRI, C. C. Nitrogen dynamics in soils of forest and active pastures in the Western Brazilian Amazon Basin. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, n. 9, p. 1167-1175, 1995.

NEILL, C.; MELILLO, J. M.; STEUDLER, P. A.; CERRI, C. C.; MORAES, J. F. L.; PICCOLO, M. C.; BRITO, M. Soil carbon and nitrogen stocks following forest clearing for pasture in the southwestern Brazilian Amazon. **Ecological Applications**, Washington, v.7, n.4, p.1216-1225, 1997.

NEILL, C.; CERRI, C.; MELILLO, J. M.; FEIGL, B. J.; STEUDLER, P. A.; MORAES, J. F. L.; PICCOLO, M. C. Stocks and dynamics of soil carbon following deforestation for pasture in Rondônia. In: LAL, R.; KIMBLE, J. M.; FOLLETT, R. F.; STEWART, B. A. (Ed.). **Soil processes and the carbon cycle**. Boca Raton: CRC Press, 1998. Florida, p. 9-28.

NEILL, C.; PICCOLO, M. C.; MELILLO, J. M.; STEUDLER, P. A.; CERRI, C. C. Nitrogen dynamics in Amazon forest and pasture soils measured by ¹⁵N pool dilution. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, p. 567-572, 1999.

NICOLAISEN, M. H.; RAMSING, N. B. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) approaches to study the diversity of ammonia-oxidizing bacteria. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 50, p. 189-203, 2002.

NICOLAISEN, M. H.; RISGAARD-PETERSEN, N.; REVSBECH, N. P.; REICHARDT, W.; RAMSING, N. B. Nitrification–denitrification dynamics and community structure of ammonia oxidizing bacteria in a high yield irrigated Philippine rice field. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 49, p. 359-369, 2004.

OLIVEIRA, J. B., JACOMINE, P.K.T., CAMARGO, M.N. **Classes gerais de solos do Brasil: Guia auxiliar para seu reconhecimento**. 2a Ed. Jaboticabal, FUNEP, 1992, 201p.

OLIVEIRA, M. D. Sugarcane and ethanol production and carbon dioxide balances. In: PIMENTEL, D. (Ed.). **Biofuels, solar and wind as renewable energy systems** - benefits and risks. Heidelberg: Springer, 2008. cap. 9, p. 215-230.

ØVEREÅS, L.; FORNEY, L.; DAAE, F. L.; TORSVIK, V. Distribution of bacterioplankton in meromictic lake Sælenvannet, as determined by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 63, p. 3367-3373, 1997.

PAIVA, A. O.; FARIA, G. E. Estoque de carbono do solo sob Cerrado *sensu strictu* no Distrito Federal, Brasil. **Revista Tropic – Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 1, n. 1, p. 59, 2007.

PANOSSO, A. R.; PEREIRA, G. T.; MARQUES JÚNIOR, J.; LA SCALA JÚNIOR, N. Variabilidade espacial da emissão de CO₂ em latossolos sob cultivo de cana-de-açúcar em diferentes sistemas de manejo **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 227-236, 2008.

PARRON, L. M.; BUSTAMANTE, M. M. C.; CAMARGO, P. B. Composição Isotópica de carbono e nitrogênio em solos e plantas de uma mata de galeria: efeito do gradiente topográfico. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Cerrados**, Planaltina, n. 127, p. 1-24, 2004.

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

PHILIPPOT, L.; HALLIN, S. Finding the missing link between diversity and activity using denitrifying bacteria as a model functional community. **Current Opinion in Microbiology**, Heidelberg, v. 8, p. 234-239, 2005.

PICCOLO, M. C.; NEILL, C.; CERRI, C. C. Net nitrogen mineralization and net nitrification along a tropical forest-to-pasture chronosequence. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 162, p. 61-70, 1994.

PINHEIRO, E. F. M.; LIMA, E.; CEDDIA, M. B.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Estoques de carbono e nitrogênio num Argissolo Amarelo cultivado com cana-de-açúcar: influência da queima ou manutenção da palhada. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento – Embrapa Agrobiologia**, Seropédica, v. 17, p. 4-21, 2007.

REATTO, A.; CORREIA, J. R.; SPERA, S.T. Solos do bioma do Cerrado: Aspectos pedológicos. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados, 1998. p. 47-83.

REINERT, D. J.; MUTTI, L. S. M.; ZAGO, A.; AZOLIN, M. A. D.; HOFFMANN, C. L. Efeito de diferentes métodos de preparo do solo sobre a estabilidade de agregados em Solo Podzólico Vermelho - Amarelo. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, Santa Maria, v. 14, n. 1, p. 19-25, 1984.

RESENDE, A. S.; XAVIER, R. P.; OLIVEIRA, O. C.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse applications on yield of sugar cane and soil carbon and nitrogen stocks. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 281, p. 339–351, 2006.

ROBERTSON, G. P.; BLEDSOE, C. S.; COLEMAN, D. C.; SOLLINS, P. **Standard soil methods for long term ecological research**. Oxford: Oxford University Press, 1999. 486 p.

ROSCOE, R.; BUURMAN, P.; VELTHORST, E. J.; PEREIRA, J. A. A. Effects of fire on soil organic matter in a "Cerrado sensu-strictu" from southeast Brazil as revealed by changes in $\delta^{13}\text{C}$. **Geoderma**, Amsterdam, v. 95, p. 141-160, 2000.

ROSCOE, R.; BUURMAN, P.; VELTHORST, E. J.; VASCONCELLOS, C. A. Soil organic matter dynamics in density and particle size fractions revealed by the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio in a Cerrado's Oxisol. **Geoderma**, Amsterdam, v. 104, p. 185-202, 2001.

ROSCOE, R.; BUURMAN, P. Tillage effects on soil organic matter in density fractions of a Cerrado Oxisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 70, p. 107-119, 2003.

ROTTTHAUWE, J. H.; WITZEL, K. P.; LIESACK, W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 63, p. 4704-4712, 1997.

RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. **Flow injection analysis**. New York: Wiley Interscience, 1981. 271 p.

SÁ, J. C. M.; CERRI, C. C.; LAL, R.; DICK, W. A.; PICCOLO, M. C.; FEIGL, B. E. Soil organic carbon and fertility interactions affected by a tillage chronosequence in a Brazilian Oxisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 104, p. 56-64, 2009.

SALTON, J. C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; BOENI, M.; CONCEIÇÃO, P. C.; FABRÍCIO, A. C.; MACEDO, M. C. M.; BROCH, D. L. Agregação e estabilidade de agregados do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 11-21, 2008.

SANTOS, V. B.; CASTILHOS, D. D.; CASTILHOS, R. M. V.; PAULETTO, E. A.; GOMES, A. S.; SILVA, D. G. Biomassa, atividade microbiana e teores de carbono e nitrogênio totais de um planossolo sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 3, p. 333-338, 2004.

SAS. Institute. **SAS/STAT** guide for personal computer: Version 9.1. Cary: SAS Institute, 1987. 1 v.

SILVA, I. F.; MIELNICZUK, J. Avaliação do estado de agregação do solo afetado pelo uso agrícola. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, n. 1, p. 113-117, 1997.

SILVA, A. J. N., CABEDA, M. S. V., CARVALHO, F. G. Matéria orgânica e propriedades físicas de um Argissolo Amarelo Coeso sob sistemas de manejo com cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10 p. 579-585, 2006.

SILVA, A.J.N., RIBEIRO, M.R., CARVALHO, F.G., SILVA, V.N., SILVA, L.E.S.F. Impact of sugarcane cultivation on soil carbon fractions, consistence limits and aggregate stability of a Yellow Latosol in Northeast Brazil. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 94 p. 420-424, 2007.

SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S.; **Microbiologia do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007. 312 p.

SIQUEIRA NETO, M. **Estoque de carbono e nitrogênio do solo com diferentes manejos no Cerrado goiano**. 2006. 159 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

SIQUEIRA NETO, M.; PERRIN, A. S.; PAVEI, M. A.; PICCOLO, M. C.; BERNOUX, M.; SCOPEL, E.; DOUZET, J. M.; SEGUY, L.; BOUZINAC, S.; CERRI, C. E. P.; CERRI, C. C. Estoques de carbono em solos cultivados e floresta na transição Cerrado - Amazônia em Sinop (MT). In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA - MANEJO INTEGRADO A CIÊNCIA DO SOLO NA PRODUÇÃO DE ALIMENTOS, 15., 2004, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 2004. 1 Cd-ROM.

SIX, J.; FELLER, C.; DENEFF, K.; OGLE, S. M.; SA, J. C. DE M.; ALBRECHT, A. Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils – effect of no-tillage. **Agronomie**, Paris, v. 22, p. 755-775, 2002.

SMALLA, K.; WIEKAND, G.; BUCHNER, A.; ZOCK, A.; PARZY, J.; KAISER, S.; ROSKOT, N.; HEUER, H.; BERG, G. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: Plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 67, n. 10, p. 4742-4751, 2001.

SMITH, M. S.; TIEJDE, J. M. Phases of desnitrification following oxygen depletion in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 11, p. 261-267, 1978.

SMITH, K. A.; DOBBIE, K. E. The impact of sampling frequency and sampling times on chambers-base measurement of N₂O emissions from fertilized soils. **Global Change Biology**, Oxford, v. 7, p. 933-945, 2001.

SOARES, L. H. B.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. **Mitigação das emissões de gases efeito estufa pelo uso de etanol da cana-de-açúcar produzido no Brasil**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009. 14 p. (Circular Técnica, 27).

SOUZA, Z. M.; MARQUES JÚNIOR, J.; PEREIRA, T. G. Variabilidade espacial da estabilidade de agregados e matéria orgânica em solos de relevos diferentes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 5, p. 491-499, 2004.

TAGLIAFERRO, A. C. **Análise molecular bacteriana de solos do Cerrado utilizando bibliotecas de rDNA 16S** – uma perspectiva biotecnológica. 2005. 120 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Genômicas e Biotecnologia) - Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2005.

THOMPSON, F. L.; OIVEIRA V. M.; AZEVEDO, J. L.; ARAUJO, W. L.; INAVIO, C. A.; SELEGHIM, M. H. R.; KITAJIMA, E. W. **Taxonomia microbiana, de procariontes, de fungos, de protozoários e de vírus**. Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, CGEE, 2005. 53 p.

THROBÄCK, I. N.; ENWALL, K.; JARVIS, Å.; HALLIN, H. Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 49, p. 401-417, 2004.

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

TORSVIK, V.; GOSKØYR, J.; DAAE, F. L. High diversity in DNA of soil bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington v. 56, n. 2, p. 782-787, 1990.

TÓTH, E.; KOÓS, S.; FARKAS, C. Soil carbon dioxide efflux determined from large undisturbed soil cores collected in different soil management systems. **Biologia**, Warsaw, v. 64, n.3 p. 643-647, 2009.

VALPASSOS, M. A. R.; CALVACANTE, E. G. S.; CASSIOLATO, A. M. R.; ALVES, M. C. Effects of soil management systems on soil microbial activity bulk density and chemical properties. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1539-1545, 2001.

URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; OLIVEIRA, O. C.; LIMA, E.; GUIMARÃES, D. H. V. **A importância de não queimar a palha na cultura de cana-de-açúcar**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, CNPDS, 1991. 6 p. (Comunicado Técnico, 5).

VAN RAIJ, B. A capacidade de troca de cátions das frações orgânica e mineral em solos. **Bragantia**, Campinas, v. 28, p. 85-112, 1969.

VARELA, R. F.; BUSTAMANTE M. M. C.; PINTO, A. S.; KISSELLE, K. W.; SANTOS, R. V.; BURKE, R. A.; ZEPP, R. G.; VIANA, L. T. Soil fluxes of CO₂, CO, NO and N₂O from an old pasture and from native savanna in Brazil. **Ecological Applications**, Washington, v. 14, n. 4, p. S221-S231, 2004.

VELDKAMP, E. Organic carbon turnover in three tropical soils under pasture after deforestation. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.58, n.1, p.175-180, 1994.

WATSON, R. T. (Ed.). **Climate change 2001: Synthesis report third assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)**. Cambridge: Cambridge University Press, 2001. 397 p.

XUE, D.; YAO, H. Y.; GE, D. Y.; HUANG, C. Y. Soil microbial community structure in diverse land use systems: A comparative study using Biolog, DGGE, and PLFA analyses. **Pedosphere**, Beijing, v. 18, n. 5, p. 653–663, 2008.

WHIETHÖLTER, S. Nitrogênio no solo sob plantio direto. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 58, p. 38-42, 2000.

WU, Y.; LIU, G.; FU, B.; LIU, Z.; HU, H Comparing soil CO₂ emission in pine plantation and oak shrub: dynamics and correlations. **Ecology Research**, Kyoto, v.21 840-848p. 2006.

WWF-BRASIL. **Cerrado**. Brasília, DF. Disponível em: http://www.wwf.org.br/informacoes/questoes_ambientais/biomas/bioma_Cerrado/. Acesso em: 13 mar. 2008.

YOSHIE S.; NODA, N.; MIYANO, T.; TSUNEDA, S.; HIRATA, A.; INAMORI, Y. Microbial community analysis by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified 16S rDNA and the cultivation method. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 92, n. 4, p. 346-353, 2001.

YOUKER, R. E.; McGUINNESS, J. L. A short method of obtaining mean weight-diameter values of aggregate analyses of soils. **Soil Science**, New Brunswick, v. 83, n. 4, p. 291-294, 1957.

ZILLI, J. E.; SMIDERLE, O. J.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G.; População microbiana em solo cultivado com soja e tratado com diferentes herbicidas em área de Cerrado no estado de Roraima. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 37, n. 2, p. 201-212, 2007.

ZOETENDAL E G, AKKERMANS A D L, DE VOS W M. Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 64, p. 3854-3859, 1998.