

## Pesquisa Agropecuária Brasileira



Todo o conteúdo deste periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma Licença Creative Commons. Fonte:

[https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-204X2012000200016&lng=pt&tln g=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2012000200016&lng=pt&tln g=pt). Acesso em: 21 out. 2020.

### REFERÊNCIA

SOUZA, Leandro Moraes de et al. Estrutura metabólica e genética de comunidades bacterianas em solo de cerrado sob diferentes manejos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 2, p. 269-276, fev. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000200016>. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-204X2012000200016&lng=pt&tln g=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2012000200016&lng=pt&tln g=pt). Acesso em: 21 out. 2020.

# Estrutura metabólica e genética de comunidades bacterianas em solo de cerrado sob diferentes manejos

Leandro Moraes de Souza<sup>(1)</sup>, Franciele Schlemmer<sup>(2)</sup>, Priscila Martins Alencar<sup>(2)</sup>, André Alves de Castro Lopes<sup>(1)</sup>, Samuel Ribeiro Passos<sup>(3)</sup>, Gustavo Ribeiro Xavier<sup>(4)</sup>, Marcelo Ferreira Fernandes<sup>(5)</sup>, Ieda de Carvalho Mendes<sup>(2)</sup> e Fábio Bueno dos Reis Junior<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade de Brasília, Caixa Postal 04508, CEP 70910-970 Brasília, DF. E-mail: leandroms83@yahoo.com.br, andrealvesagronomo@yahoo.com.br <sup>(2)</sup>Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, CEP 73310-970 Planaltina, DF. E-mail: fran.bio2001@gmail.com, priscila\_malencar@yahoo.com.br, mendesi@cpac.embrapa.br, fabio@cpac.embrapa.br <sup>(3)</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Agronomia e Ciência do Solo, Rodovia BR 465, Km 7, CEP 23890-000 Seropédica, RJ. E-mail: passos.samuel@gmail.com <sup>(4)</sup>Embrapa Agrobiologia, BR 465, Km 7, CEP 23890-000 Seropédica, RJ. E-mail: gustavo@cnpab.embrapa.br <sup>(5)</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros, Avenida Beira Mar, nº 3.250, Sementeira, CEP 49025-040 Aracaju, SE. E-mail: marcelo@cpac.embrapa.br

**Resumo** – O objetivo deste trabalho foi avaliar a estrutura metabólica e genética de comunidades bacterianas em Latossolo de cerrado sob vegetação nativa ou cultivado em sistema de rotação soja/milho sob preparo convencional e plantio direto. Foram utilizadas microplacas EcoPlate para determinar o perfil e a diversidade metabólica das comunidades bacterianas, e eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) para avaliar a estrutura genética. O teste estatístico de Mantel foi utilizado para avaliar a relação entre a estrutura metabólica e a genética. A comunidade bacteriana sob vegetação nativa apresentou perfil metabólico diferente do encontrado em solos cultivados. No solo cultivado com soja sob preparo convencional, o padrão de utilização das fontes de carbono diferenciou-se dos demais tratamentos. Com base nos resultados de DGGE, a comunidade bacteriana sob vegetação nativa apresentou 35% de similaridade com as de áreas cultivadas. Foram formados grupos distintos de comunidades bacterianas do solo entre as áreas sob preparo convencional e plantio direto. Houve correlação significativa de 62% entre as matrizes geradas pelas microplacas EcoPlate e pela DGGE. Variações no perfil metabólico estão relacionadas às variações na estrutura genética das comunidades bacterianas do solo.

**Termos para indexação:** biodiversidade do solo, Biolog EcoPlate, DGGE, perfil metabólico, plantio direto, preparo convencional.

## Genetic and metabolic structure of bacterial communities in cerrado soil under different managements

**Abstract** – The objective of this work was to evaluate the metabolic and genetic structure of bacterial communities in a cerrado Oxisol under native vegetation or cultivated in a soybean/maize rotation system under conventional tillage and no tillage. EcoPlate microplates were used to determine the metabolic profile and diversity of bacterial communities, and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to assess the genetic structure. The Mantel statistic test was used to evaluate the relationship between the metabolic and the genetic structure. The bacterial community under native vegetation showed a different metabolic profile than that of cultivated soils. In the area cultivated with soybean under conventional tillage, the carbon source utilization pattern differed from the other treatments. Based on the DGGE results, the bacterial community under native vegetation showed 35% similarity to the ones found under cultivation. Distinct groups of soil bacterial communities were formed between the areas under conventional tillage and no tillage. A significant correlation of 62% was observed between matrices generated by EcoPlate microplates and by DGGE. Variations in the metabolic profile are related to changes in the genetic structure of soil bacterial communities.

**Index terms:** soil biodiversity, Biolog EcoPlate, DGGE, metabolic profile, no tillage, conventional tillage.

### Introdução

Recentemente, começou-se a entender que a biodiversidade do solo, considerado um dos habitats menos estudados, é fator crucial na regulação e no funcionamento dos ecossistemas (Copley, 2000). Uma pequena amostra de solo apresenta um número extraordinário de microhabitats, e a variação de

elementos físico-químicos, como temperatura, umidade e nutrientes dentro de cada um desses microhabitats aumenta ainda mais a diversidade de nichos disponíveis para as populações microbianas (Roesch et al., 2007).

Atualmente, existem diversas ferramentas metodológicas que permitem avaliar parte da estrutura funcional e genética das comunidades microbianas dos

solos. Um método associado ao estudo da estrutura funcional, principalmente de bactérias do solo, é a avaliação do perfil metabólico das comunidades por meio do sistema EcoPlate, que mede a intensidade de utilização de diferentes fontes de carbono (Garland & Mills, 1991). Vários estudos mostraram que é possível observar, com essas microplacas, diferenças significativas no perfil metabólico de comunidades oriundas de amostras de solo distintas (Zak et al., 1994). Metodologias baseadas no perfil genético de populações de microrganismos do solo, como a eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE), são utilizadas para avaliar a diversidade estrutural das comunidades microbianas, com grande utilidade na análise simultânea de várias amostras, e permitem avaliar o efeito de perturbações ambientais e monitorar a dinâmica espaço-temporal dessas comunidades (Muyzer, 1999).

Diferentes sistemas de cultivo promovem distintos graus de mobilização do solo, o que causa alterações nas propriedades químicas e físicas que afetam os microrganismos (Souza et al., 2005; Pereira et al., 2007). Diversos estudos têm avaliado os efeitos do preparo convencional (PC) e do plantio direto (PD) nos atributos químicos, físicos e biológicos do solo. Em geral, os solos sob PD apresentam aumento nos índices de matéria orgânica (Calegari, 2006), incrementos na retenção de umidade, melhor controle da erosão (Bayer et al., 2002), maiores níveis de biomassa microbiana (Mendes et al., 2003) e maior atividade de enzimas, como  $\beta$ -glicosidase (Mendes et al., 2003), fosfatase ácida (Peixoto et al., 2010) e arilsulfatase (Mendes et al., 2003). Entretanto, apesar dessas e de outras alterações nas propriedades do solo, são poucos os trabalhos sobre os efeitos do manejo na estrutura das comunidades microbianas (Peixoto et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a estrutura metabólica e genética de comunidades bacterianas em Latossolo de cerrado sob vegetação nativa ou cultivado em sistema de rotação soja/milho sob PC e PD.

### Material e Métodos

O experimento foi conduzido em um Latossolo Vermelho-Amarelo, de textura argilosa, na área experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF (15°36'34"S e 47°44'36"W, a 1.175 m de altitude).

O clima da região é classificado, conforme Köppen, como Aw, tropical estacional, com precipitação anual média de 1.500 mm, concentrada de outubro a março, e período seco definido em termos de déficit hídrico, com duração de cinco a seis meses. Uma área sob vegetação nativa (cerrado stricto sensu), adjacente ao experimento, foi utilizada como referência das características originais do solo.

O experimento teve início em 1992 e consistiu de quatro faixas, das quais duas foram cultivadas sob PD (320 m de comprimento por 50 m de largura) e duas sob PC (320 m de comprimento por 25 m de largura). Cada par de faixas foi constituído de sistema de rotação de culturas composto por milho/soja e soja/milho. As amostras foram coletadas na época chuvosa, em fevereiro de 2008, durante o período de floração das culturas, na profundidade de 0–10 cm, com uso de trado holandês.

As amostragens na área sob vegetação nativa foram feitas por meio de transectos, tendo-se dividido a área em três talhões. Em cada talhão, foram retiradas amostras compostas de 20 subamostras, coletadas aleatoriamente. As áreas sob PD e PC foram subdivididas em três parcelas de 11x50 m e 11x25 m, respectivamente, tendo-se coletado 15 subamostras formadas por cinco sub-subamostras retiradas de três pontos dentro de cada parcela. Utilizou-se o mesmo arranjo que Nunes et al. (2011), em que a amostragem é realizada perpendicularmente à linha de plantio, com cinco furos (um no centro da linha de plantio e mais dois de cada lado). As características químicas e físicas dos solos das áreas avaliadas estão descritas na Tabela 1.

As amostras foram refrigeradas a 8°C por, no máximo, 24 horas, para as análises do perfil metabólico, e foram mantidas em freezer, a -20°C, até o momento da extração do DNA para a análise com PCR-DGGE.

Para a determinação do perfil metabólico das comunidades bacterianas, foram aplicados 120  $\mu$ L de suspensão de solo, diluída a  $10^{-3}$ , em cada poço das microplacas Biolog EcoPlate (Biolog, Inc., Hayward, CA, EUA), que foram incubadas a 28°C (Govaerts et al., 2007). Foram realizadas, a cada 12 horas, leituras em espectrofotômetro leitor de microplacas Biochrom Asys UVM 340, (Biochrom Ltd., Cambridge, Reino Unido) a 590 nm, até obtenção de média de desenvolvimento de cor ("average well color development", AWCD) de 0,8–1,0 unidade de absorbância para cada placa,

conforme adaptado de Garland & Mills (1991) e Zak et al. (1994). As microplacas Biolog Ecoplate são compostas por 31 fontes de C mais um controle, dispostos em triplicata. Os valores de absorvância foram diminuídos do controle, e os valores negativos foram considerados como zero.

Para minimizar possíveis efeitos de diferença de inóculo entre as amostras, os dados obtidos de cada placa foram normalizados pela divisão dos valores brutos de absorvância de cada poço pelo AWCD (Garland & Mills, 1991). Esses dados foram utilizados para calcular a riqueza de substratos (S) e o índice de diversidade de Shannon (H), de acordo com Zak et al. (1994). O valor S refere-se ao número de diferentes substratos que podem ser utilizados pela comunidade microbiana, enquanto H compreende tanto a riqueza de substratos como a intensidade com que as fontes de C são utilizadas pela microbiota do solo. Os resultados de S e H foram submetidos ao teste não paramétrico de Wilcoxon, a 5% de probabilidade, tendo-se utilizado o programa SAS (SAS Institute, 2002). Após normalizados, os valores de absorvância, obtidos a partir da utilização de cada fonte de carbono presente nas microplacas, foram ordenados por meio da análise “non-metric multidimensional scaling” (NMS), com base na distância de Sørensen determinada com uso do programa PC-ORD 5.0 (MjM Software, Gleneden Beach, OR, EUA). A ordenação bidimensional resultante foi representada graficamente, e as diferenças significativas entre o perfil metabólico das comunidades bacterianas foram analisadas por meio do método multivariado de comparação entre médias, conhecido como “multi-response permutation procedures” (MRPP), conforme Peixoto et al. (2010).

Para a determinação da estrutura genética das comunidades bacterianas, foi realizada extração de DNA das amostras de solo com uso do kit UltraClean Soil DNA Isolation (Mo Bio Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, EUA), de acordo com o protocolo

descrito pelo fornecedor. Em seguida, parte da região 16S DNA ribossomal foi amplificada por meio de PCR em volume final de 50  $\mu\text{L}$ , contendo 5,0  $\mu\text{L}$  de tampão (10x), 4,0  $\mu\text{L}$  de dNTPs (0,25  $\text{mmol L}^{-1}$ ), 2,0  $\mu\text{L}$  de cada um dos iniciadores (U968f-GC e L1401r, 5,0  $\text{pmol } \mu\text{L}^{-1}$ ) (Heuer et al., 1997), 0,5  $\mu\text{L}$  de Taq DNA polimerase (GE Healthcare do Brasil Ltda., São Paulo, SP), 1,0  $\mu\text{L}$  de DNA molde (30 ng) e 35,5  $\mu\text{L}$  de água milli-Q estéril. As condições de amplificação consistiram em: etapa inicial de desnaturação a 94°C por 4 min, seguida de 25 ciclos de 94°C por 1 min, 47°C por 1,5 min e 72°C por 1 min, mais extensão final a 72°C por 15 min. Em seguida, foram aplicados 30  $\mu\text{L}$  de produto das amplificações nos poços do gel de DGGE, tendo-se utilizado o sistema de eletroforese vertical DCode Universal Mutation Detection System (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, EUA). O gradiente de desnaturantes utilizado foi de 50 a 70%, em gel de poliacrilamida 6%. A eletroforese foi realizada em tampão TAE 1X (Tris-acetato-EDTA) a 60°C por 18 horas, a 70 v. Após o término da corrida, o gel foi corado em Sybr Green I. Os perfis de bandas gerados pela DGGE foram analisados por meio do programa GelCompar II (Applied Maths, 2012), tendo-se utilizado o coeficiente de Jaccard. Para o agrupamento e a construção do dendrograma de similaridade, utilizou-se o algoritmo “unweighted pair-group method with arithmetic mean” (UPGMA).

A análise da relação entre o perfil metabólico das comunidades bacterianas e a estrutura genética foi feita com auxílio do teste de Mantel (Douglas & Endler, 1982), para verificar a associação entre a matriz gerada a partir das análises em microplacas Biolog EcoPlate e os perfis de DGGE. O teste de Mantel foi realizado com uso do método de aproximação assintótica, e a distância de Sørensen por meio do pacote estatístico do programa PC-ORD 5.0 (MjM Software, Gleneden Beach, OR, EUA).

**Tabela 1.** Propriedades químicas e físicas, na profundidade de 0 a 10 cm, de Latossolo Vermelho-Amarelo sob vegetação nativa (cerrado stricto sensu) e cultivado com milho e soja sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC).

Tratamento	pH em H <sub>2</sub> O	MO (g kg <sup>-1</sup> )	P (mg dm <sup>-3</sup> )	K	Al	H+Al (cmol. dm <sup>-3</sup> )	Ca	Mg	Porosidade (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )			Densidade (Mg m <sup>-3</sup> )
									Micro	Macro	Total	
Cerrado	4,99	32,7	1,14	0,09	1,00	6,99	0,09	0,09	0,39	0,21	0,60	0,91
Milho PD	5,70	30,1	16,27	0,15	0,04	4,76	2,49	0,79	0,41	0,17	0,59	0,91
Milho PC	5,75	24,7	14,55	0,16	0,05	4,40	2,02	0,48	0,44	0,15	0,58	0,95
Soja PD	6,27	28,6	18,16	0,20	0,07	3,10	3,29	1,40	0,40	0,20	0,60	0,89
Soja PC	5,95	25,5	9,67	0,20	0,04	3,60	1,92	0,58	0,41	0,17	0,57	0,96

## Resultados e Discussão

A comunidade bacteriana do solo sob vegetação nativa apresentou menor riqueza de substratos (S) e índice de diversidade de Shannon (H), em comparação às comunidades bacterianas dos solos das áreas cultivadas. Não foram observadas diferenças significativas entre as áreas cultivadas com soja e milho, sob um mesmo tipo de manejo. Quanto ao preparo do solo, foram observadas diferenças apenas em relação à riqueza de substratos, que foi maior nos solos sob PD que nos sob PC (Tabela 2). Esses resultados são indicativos de que as culturas de soja e milho não tiveram efeito nos parâmetros S e H. Entretanto, o manejo do solo parece influenciar o número de diferentes substratos que podem ser utilizados pela comunidade microbiana, o que é representado pela riqueza de substratos.

Variações na diversidade microbiana podem ser relacionadas a fatores como a diversidade vegetal de cada área e as características químicas (pH e teores de nutrientes) e físicas (porosidade, estabilidade de agregados e estrutura) de cada solo (Grayston et al., 2004). É importante ressaltar que a utilização de um método dependente de cultura, como o Biolog, apresenta limitações, pois não considera as bactérias que não podem ser cultivadas (Ros et al., 2008). Além disso, qualquer meio de cultura tende a ser seletivo, em maior ou menor grau, para determinados grupos de bactérias (Zak et al., 1994).

Ao avaliar os efeitos da adubação nitrogenada com ureia de liberação controlada, sob plantio direto e preparo convencional, nas comunidades bacterianas do solo, Lupwayi et al. (2010) relataram diferenças no índice de diversidade de Shannon entre as áreas

**Tabela 2.** Riqueza de substratos e índice de diversidade de Shannon, na profundidade de 0 a 10 cm, com base na utilização de fontes de C presentes nas microplacas Biolog EcoPlate pelas comunidades bacterianas, em Latossolo Vermelho-Amarelo sob vegetação nativa (cerrado stricto sensu), cultivado com milho e soja sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC)<sup>(1)</sup>.

Tratamentos	Riqueza de substratos	Índice de Shannon
Cerrado	22,50c	2,98b
Milho PD	27,25a	3,23a
Milho PC	24,33bc	3,20a
Soja PD	26,00a	3,22a
Soja PC	24,75b	3,25a

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Wilcoxon, a 5% de probabilidade.

adubadas com ureia e o controle não adubado, sem alterações significativas entre os tipos de preparo. Entretanto, ao analisar os efeitos do manejo do solo e da rotação de culturas no perfil metabólico das comunidades microbianas do solo, Lupwayi et al. (1998) observaram que as áreas sob plantio direto apresentaram maiores índices de Shannon e riqueza de substratos que as sob preparo convencional. Resultado similar foi obtido por Chaer et al. (2009), que verificaram diminuição em S e H à medida que se intensificou o grau de revolvimento do solo. De acordo com Lupwayi et al. (1998), isso ocorre, principalmente, em virtude das alterações causadas pelo manejo, como redução na diversidade de organismos causada por dessecação, compactação do solo, diminuição no volume de poros e, conseqüentemente, interrupção do acesso aos recursos alimentares. Esse comportamento foi observado, no presente trabalho, apenas quanto à riqueza de substratos, pois a utilização de diferentes sistemas de manejo não resultou em diferenças claras relacionadas ao índice de diversidade de Shannon.

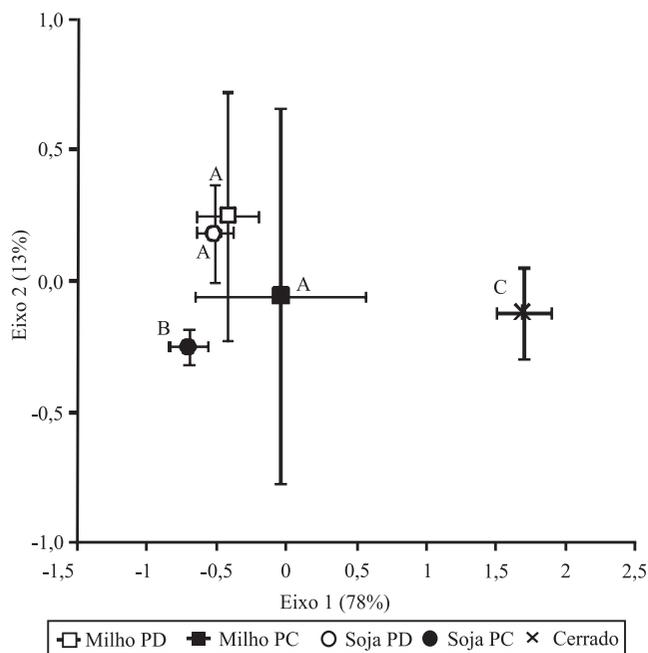
O perfil metabólico das comunidades bacterianas do solo sob vegetação nativa foi diferente do observado nas áreas sob cultivo (Figura 1). Além disso, as comunidades bacterianas do solo cultivado com soja e manejado com PC apresentaram padrão de utilização das fontes de carbono significativamente diferente dos demais tratamentos, que não diferiram entre si.

O fato de a comunidade bacteriana do solo sob vegetação nativa apresentar perfil metabólico diferente do das comunidades de microrganismos do solo sob áreas de cultivo era esperado. Gomez et al. (2000), ao utilizar a mesma metodologia, também observaram que as alterações no ecossistema, de condição natural para áreas agrícolas, afetaram a estrutura metabólica das comunidades bacterianas. De acordo com Chaer et al. (2009), alterações no perfil metabólico das comunidades bacterianas estão relacionadas a mudanças nas propriedades químicas e físicas dos solos. Vários estudos têm mostrado que diferentes genótipos<sup>(1)</sup> de plantas influenciam a comunidade microbiana presente na rizosfera, em razão da diferença na sinalização emitida pelas raízes, como exsudatos (Barea et al., 2005; Marschner et al., 2006).

O perfil metabólico deve ser considerado indicador relativo de alterações nas comunidades microbianas dos solos (Gomez et al., 2004), e os seus resultados devem ser interpretados com cautela, pois as diferentes

fontes de C representadas entre os 31 substratos das microplacas Biolog EcoPlate não abrangem plenamente a diversidade de compostos nutricionais dos ambientes naturais (Konopka et al., 1998). Apesar de apresentar limitações, as microplacas Biolog têm sido usadas com sucesso para monitorar as mudanças nas comunidades bacterianas no solo e em outros ambientes naturais (Gomez et al., 2004; Ros et al., 2008). Portanto, ao se considerar os resultados obtidos, torna-se clara a influência das práticas agrícolas sobre a microbiota do solo.

No dendrograma construído a partir dos dados obtidos com a DGGE, observou-se que a estrutura das comunidades bacterianas de solos sob vegetação nativa apresentou similaridade de apenas 35% com a das obtidas em áreas cultivadas (Figura 2). Foram formados grupos distintos entre as áreas sob PD e PC.



**Figura 1.** Estrutura funcional das comunidades bacterianas de Latossolo Vermelho-Amarelo sob vegetação nativa (cerrado stricto sensu), cultivado com milho e soja sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), determinada pelo perfil metabólico em microplacas Biolog EcoPlate por meio da análise “non-metric multidimensional scaling” (NMS). Símbolos com letras iguais não diferem de acordo com o método multivariado de comparação entre médias (“multi response permutation procedures” – MRPP), a 5% de probabilidade. Os valores entre parênteses após os títulos dos eixos referem-se à percentagem da variabilidade original dos dados representada em cada eixo.

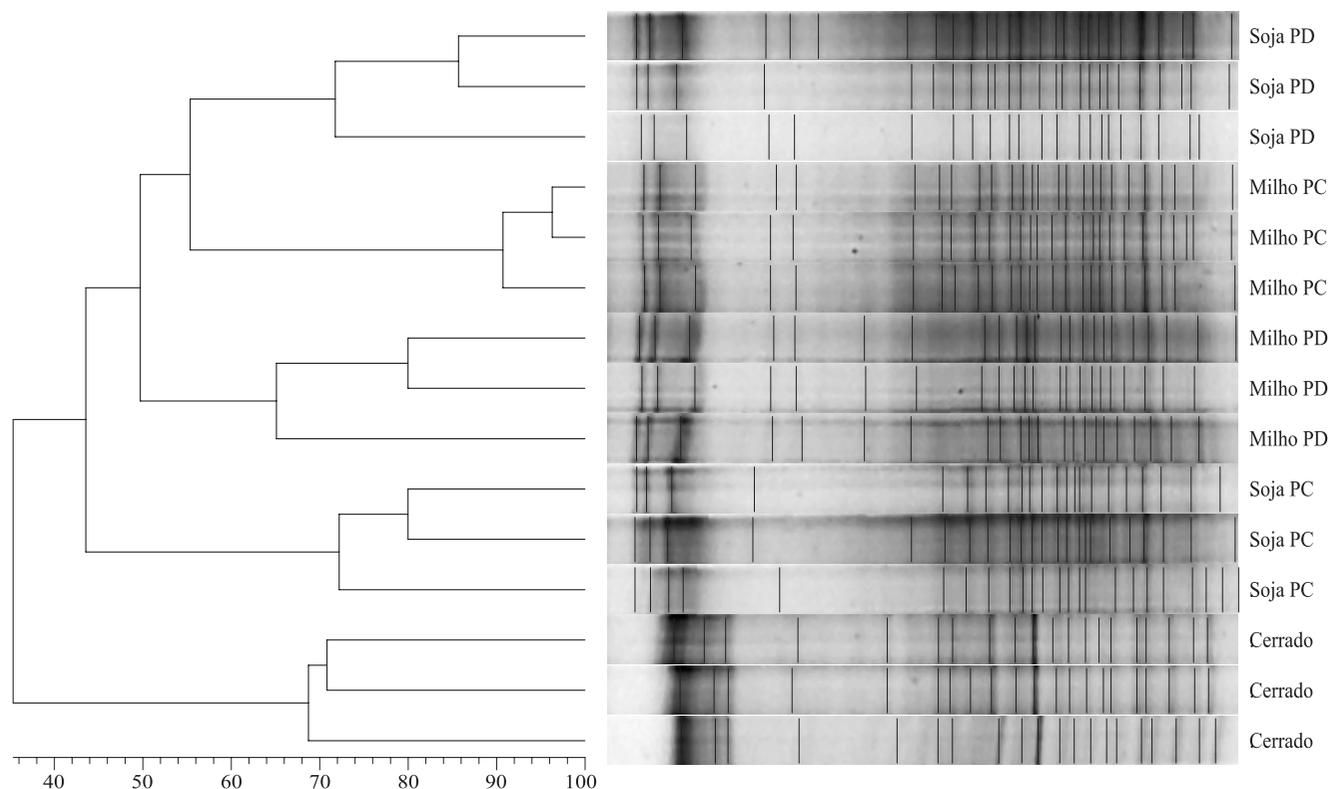
Sob a cultura do milho, a similaridade entre PD e PC foi de 49%, e sob a cultura da soja foi de 44%.

Diferenças entre as comunidades bacterianas de solo sob vegetação nativa e sob cultivo também foram relatadas por outros autores em solos de cerrado, em Santo Antônio de Goiás, GO (Peixoto et al., 2006), Cristalina, GO (Bresolin et al., 2010) e Planaltina, DF (Peixoto et al., 2010). Segundo Garbeva et al. (2004), isso ocorre porque a estrutura das comunidades microbianas é afetada pela estrutura e pela composição da vegetação de cobertura, em virtude da liberação de formas específicas de carbono que podem representar importantes fontes de energia. Além disso, as comunidades microbianas do solo sofrem forte influência do pH do solo e da relação C/N (Fierer et al., 2009), fatores que são totalmente alterados quando se corrige o solo com o acréscimo de calcário e fertilizantes. Esse fato também ajuda a explicar as diferenças observadas entre o perfil metabólico da área nativa e dos solos cultivados.

Quanto ao manejo do solo, Peixoto et al. (2006, 2010), ao avaliar a influência de PC e PD sobre a estrutura das comunidades bacterianas em solo de cerrado, observaram diferenças entre os dois sistemas. Segundo Elsas et al. (2002), isso ocorre pois o manejo do solo tem grande influência sobre as comunidades bacterianas do solo. Estes autores verificaram que o nível de agregação do solo teve maior efeito nas comunidades bacterianas do que fatores como pH e tipo de entrada de compostos orgânicos.

Embora as reais comparações entre as populações do solo provavelmente só possam ser alcançadas por meio de sequenciamento massivo de todos os componentes, a utilização de perfis de DGGE tem se mostrado uma ferramenta poderosa para avaliar as diferenças entre as estruturas das comunidades do solo (Peixoto et al., 2006). Assim, apesar de não ser realista supor que valores absolutos do número de espécies dentro de uma comunidade possam ser obtidos por meio de perfis de DGGE, essa pode ser uma abordagem adequada em análises comparativas dos membros dominantes das comunidades (Peixoto et al., 2006).

Eventualmente, após alterações nas condições do ambiente, as comunidades microbianas buscam adaptar-se para atingirem um novo equilíbrio (Balser et al., 2002). Quando o ambiente do solo sofre alterações, a composição da comunidade microbiana será modificada por organismos mais adaptados às novas condições,



**Figura 2.** Dendrograma de similaridade (%) da estrutura das comunidades bacterianas de Latossolo Vermelho-Amarelo sob vegetação nativa (cerrado stricto sensu), cultivado com milho e soja sob plantio direto (PD) e preparo convencional (PC), gerado pelo algoritmo UPGMA e pela matriz de similaridade, tendo-se utilizado o coeficiente de Jaccard a partir dos dados obtidos por meio de eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE).

bem como por adaptações evolutivas dos organismos pré-existentes. As variações entre as estruturas metabólicas e genéticas das comunidades bacterianas do solo, observadas no presente trabalho, podem ser resposta a uma nova condição de equilíbrio.

O teste de Mantel indicou correlação significativa ( $r = 0,62^{**}$ ) entre as matrizes geradas a partir das análises em microplacas EcoPlate e os perfis de DGGE. Portanto, pode-se afirmar que as alterações observadas na composição das comunidades bacterianas são acompanhadas por variações em suas características funcionais. A relação observada entre o perfil metabólico dos microrganismos do solo e a estrutura genética das comunidades bacterianas, com base nos resultados de DGGE, está de acordo com Zak et al. (1994). Estes autores verificaram que o perfil metabólico é consequência dos efeitos ambientais, das interações ecológicas entre as diferentes populações

e da diversidade genética presente no solo. Segundo Peixoto et al. (2010), o conhecimento de como a função e a diversidade dos microrganismos são afetadas por variações causadas pelo manejo agrícola pode ser fundamental para o emprego de práticas sustentáveis.

### Conclusões

1. Os sistemas plantio direto e preparo convencional alteram o perfil metabólico e a estrutura genética das comunidades bacterianas, em comparação ao cerrado nativo.

2. O manejo do solo altera parte do perfil metabólico e da estrutura genética das comunidades bacterianas do solo, sob uma mesma cultura de milho e soja.

3. Variações no perfil metabólico estão correlacionadas a variações na estrutura genética das comunidades bacterianas do solo.

## Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal, pelo apoio financeiro; e aos membros da equipe do laboratório de Microbiologia de Solos da Embrapa Cerrados, Clodoaldo Alves de Souza, Lucas Rolim e Osmar Teago de Oliveira, pelo apoio na condução do experimento e das análises.

## Referências

- APPLIED MATHS. **GelCompar II**. Version 6.0. Sint-Martens-Latem: Applied Maths, 2012.
- BALSER, T.C.; KINZIG, A.P.; FIRESTONE, M.K. Linking soil microbial communities and ecosystem functioning. In: KINZIG, A.P.; PACALA, S.W.; TILMAN, D. (Ed.). **The functional consequences of biodiversity: empirical progress and theoretical extensions**. Princeton: Princeton University, 2002. p.265-293.
- BAREA, J.-M.; POZO, M.J.; AZCÓN, R.; AZCÓN-AGUILAR, C. Microbial co-operation in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v.56, p.1761-1778, 2005.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; MARTIN-NETO, L.; ERNANI, P.R. Stocks and humification degree of organic matter fractions as affected by no-tillage on a subtropical soil. **Plant and Soil**, v.238, p.133-140, 2002.
- BRESOLIN, J.D.; BUSTAMANTE, M.M.C.; KRÜGER, R.H.; SILVA, M.R.S.S.; PEREZ, K.S. Structure and composition of bacterial and fungal community in soil under soybean monoculture in the Brazilian Cerrado. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, p.391-403, 2010.
- CALEGARI, A. **Seqüestro de carbono, atributos físicos e químicos em diferentes sistemas de manejo em um Latossolo Argiloso do Sul do Brasil**. 2006. 191p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- CHAER, G.M.; FERNANDES, M.F.; MYROLD, D.D.; BOTTOMLEY, P.J. Shifts in microbial community composition and physiological profiles across a gradient of induced soil degradation. **Soil Science Society of America Journal**, v.73, p.1327-1334. 2009.
- COPLEY, J. Ecology goes underground. **Nature**, v.406, p.452-454, 2000.
- DOUGLAS, M.E.; ENDLER, J.A. Quantitative matrix comparisons in ecological and evolutionary investigations. **Journal of Theoretical Biology**, v.99, p.777-795, 1982.
- ELSAS, J.D. van; GARBEVA, P.; SALLES, J. Effects of agronomical measures on the microbial diversity of soils as related to the suppression of soil-borne plant pathogens. **Biodegradation**, v.13, p.29-40, 2002.
- FIERER, N.; STRICKLAND, M.S.; LIPTZIN, D.; BRADFORD, M.A.; CLEVELAND, C.C. Global patterns in belowground communities. **Ecology Letters**, v.12, p.1238-1249, 2009.
- GARBEVA, P.; VEEN, J.A.; ELSAS, J.D. van. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, p.243-270, 2004.
- GARLAND, J.L.; MILLS, A.L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community level sole carbon source utilization. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, p.2351-2359, 1991.
- GOMEZ, E.; BISARO, V.; CONTI, M. Potential C-source utilization patterns of bacterial communities as influenced by clearing and land use in a vertic soil of Argentina. **Applied Soil Ecology**, v.15, p.273-281, 2000.
- GOMEZ, E.; GARLAND, J.; CONTI, M. Reproducibility in the response of soil bacterial community-level physiological profiles from a land use intensification gradient. **Applied Soil Ecology**, v.26, p.21-30, 2004.
- GOVAERTS, B.; MEZZALAMA, M.; UNNO, Y.; SAYRE, K.D.; LUNA-GUIDO, M.; VANHERCK, K.; DENDOOVEN, L.; DECKERS, J. Influence of tillage, residue management, and crop rotation on soil microbial biomass and catabolic diversity. **Applied Soil Ecology**, v.37, p.18-30, 2007.
- GRAYSTON, S.J.; AMPBELL, C.D.; BARDGETT, R.D.; MAWDSLEY, J.L.; CLEGG, C.D.; RITZ, K.; GRIFFITHS, B.S.; RODWELL, J.S.; EDWARDS, S.J.; DAVIES, W.J.; ELSTON, D.J.; MILLARD, P. Assessing shifts in microbial community structure across a range of grasslands differing in management intensity using CLPP, PLFA and community DNA techniques. **Applied Soil Ecology**, v.25, p.63-84, 2004.
- HEUER, H.; KRSEK, M.; BAKER, P.; SMALLA, K.; WELLINGTON, E.M.H. Analysis of the actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoresis separation in denaturing gradients. **Applied and Environmental Microbiology**, v.63, p.3233-3241, 1997.
- KONOPKA, A.; OLIVER, L.; TURCO, R.F. The use of substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology. **Microbial Ecology**, v.35, p.103-115, 1998.
- LUPWAYI, N.Z.; GRANT, C.A.; SOON, Y.K.; CLAYTON, G.W.; BITTMAN, S.; MALHIE, S.S.; ZEBARTH, B.Z. Soil microbial community response to controlled-release urea fertilizer under zero tillage and conventional tillage. **Applied Soil Ecology**, v.45, p.254-261, 2010.
- LUPWAYI, N.Z.; RICE, W.A.; CLAYTON, G.W. Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.30, p.1733-1741, 1998.
- MARSCHNER, P.; SOLAIMAN, Z.; RENGEL, Z. Rhizosphere properties of Poaceae genotypes under P-limiting conditions. **Plant and Soil**, v.283, p.11-24, 2006.
- MENDES, I.C.; SOUZA, L.V.; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C. Propriedades biológicas em agregados de um Latossolo Vermelho-Escuro sob plantio convencional e direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.435-443, 2003.

- MUYZER, G. DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v.2, p.317-322, 1999.
- NUNES, R. de S.; LOPES, A.A. de C.; SOUSA, D.M.G. de; MENDES, I. de C. Sistemas de manejo e os estoques de carbono e nitrogênio em latossolo de cerrado com a sucessão soja-milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.35, p.1407-1419, 2011.
- PEIXOTO, R.S.; CHAER, G.M.; FRANCO, N.; REIS JUNIOR, F.B.; MENDES, I.C.; ROSADO, A.S. A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.98, p.403-413, 2010.
- PEIXOTO, R.S.; COUTINHO, H.L.C.; MADARI, B.; MACHADO, P.L.O.A.; RUMJANEK, N.G.; ELSAS, J.D. van; SELDIN, L.; ROSADO, A.S. Soil aggregation and bacterial community structure as affected by tillage and cover cropping in the Brazilian cerrados. **Soil and Tillage Research**, v.90, p.16-28, 2006.
- PEREIRA, A.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; KASCHUK, G.; CHUEIRE, L.M. de O.; CAMPO, R.J.; TORRES, E. Variações qualitativas e quantitativas na microbiota do solo e na fixação biológica do nitrogênio sob diferentes manejos com soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1397-1412, 2007.
- ROESCH, L.F.W.; FULTHORPE, R.R.; RIVA, A.; CASELLA, G.; HADWIN, A.K.M.; KENT, A.D.; DAROUB, S.H.; CAMARGO, F.A.O.; FARMERIE, W.G.; TRIPLET, E.W. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. **International Society for Microbial Ecology**, v.1, p.283-290, 2007.
- ROS, M.; GOBERNA, M.; PASCUAL, J.A.; KLAMMER, S.; INSAM, H. 16S rDNA analysis reveals low microbial diversity community level physiological profile assays. **Journal of Microbiological Methods**, v.72, p.221-226, 2008.
- SAS INSTITUTE. SAS user's guide: statistics. Version 9.1. Cary: SAS Institute, 2002.
- SOUZA, Z.M. de; PRADO, R.M.; PAIXÃO, A.C.S.; CESARIN, L.G. Sistemas de colheita e manejo da palhada de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.271-278, 2005.
- ZAK, J.C.; WILLIG, M.R.; MORRHEAD, D.L.; WILDMAN, H.G. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1101-1108, 1994.

---

Recebido em 28 de junho de 2011 e aprovado em 30 de janeiro de 2012