

ISBN: 978-85-921803-0-0



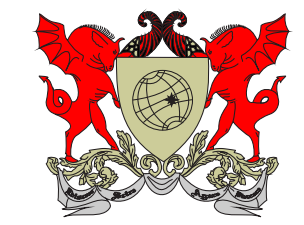
Simpósio Brasileiro de Agropecuária Sustentável

5th International Conference on Sustainable Agriculture

Ciência, Tecnologia e Inovação para o Desenvolvimento Sustentável das Novas Fronteiras Agrícolas

AUTORES
Daniel Carneiro de Abreu
Marina Moura Morales
Arthur Faganello Teodoro dos Anjos
Rafaella Teles Arantes Felipe
Marieta Prata de Lima Dias
Rogério de Paula Lana

Organização do Evento



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO



www.simbras-as.com.br

Sinop (MT)

VIII SIMBRAS - SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AGROPECUÁRIA SUSTENTÁVEL

Apoio Institucional



www.simbras-as.com.br

VIII SIMBRAS

**VIII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AGROPECUÁRIA SUSTENTÁVEL
V INTERNATIONAL CONFERENCE ON SUSTAINABLE AGRICULTURE**

ANAIS DE PALESTRAS

Editores

Daniel Carneiro de Abreu
Marina Moura Morales
Arthur Faganello Teodoro dos Anjos
Rafaella Teles Arantes Felipe
Marieta Prata de Lima Dias
Rogério de Paula Lana

6 a 8 de outubro de 2016

Sinop (MT) - Brasil

Impresso no Brasil

Diagramação e montagem: Aisten Baldan

Contato: Daniel Carneiro de Abreu Marina Moura Morales
Tel. (66) 3515 8574 Tel (66) 3211 4240
E-mail: abreu@ufmt.br marina.morales@embrapa.br
www.simbras-as.com.br cpamt.simbras@embrapa.br

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e Classificação da Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa

S612a	Simpósio Brasileiro de Agropecuária Sustentável (8: 2016 : Sinop, MT). Anais de palestras / VIII Simpósio Brasileiro de Agropecuária Sustentável, 6 a 8 de outubro de 2016; V International Conference on Sustainable Agriculture, Sinop, MT ; Editores Daniel Carneiro de Abreu <i>et al.</i> – Sinop (MT): Os Editores, 2016. 214p. : il. ; 22 cm. Tema do congresso: Agropecuária e Agroecologia. Inclui bibliografia. ISBN 978-85-921803-0-0 1. Agropecuária – Congressos. 2. Ecologia agrícola – Congressos. I. Lana, Rogério de Paula, 1965-. II. Guimarães, Geicimara, 1980-. III. Título. IV. Título: VI Simpósio Brasileiro de Agropecuária Sustentável. V. Título: VI SIMBRAS-AS. VI. Título: 630.6 CDD 22.ed.
-------	---

Microbiologia de solo em sistemas integrados: Biodiversidade e prospecção

Anderson Ferreira¹, Kellen Banhos do Carmo², Maurel Behling¹, Oscarlina Lúcia dos S. Weber²

¹Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Agrossilvipastoril.

²Doutora, Programa de pós-graduação em Agricultura Tropical – PPGAT, Universidade Federal de Mato Grosso; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Agrossilvipastoril.

Resumo: A utilização de sistemas integrados de produção se apresenta como uma das opções para garantir melhorias na produção de grãos, carne e madeira com sustentabilidade e conservação desses recursos. Os sistemas integrados podem ter diferentes configurações produtivas no campo, sendo que nos últimos anos tem se adotado cada vez mais a integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF). Os sistemas de iLPF possibilitam a recuperação de áreas degradadas por meio da intensificação do uso da terra, potencializando os efeitos complementares ou sinérgicos existentes entre as diversas espécies vegetais e a criação de animais, proporcionando, de forma sustentável, uma maior produção por área. Nesses sistemas de produção as avaliações da diversidade microbiana do solo podem fornecer indicativos sobre a variedade e variabilidade em termos de número e abundância de espécies presentes em determinado solo. As estratégias para estudos microbianos empregadas atualmente tem sido a biomassa microbiana, atividade enzimática, prospecção e biodiversidade. As ferramentas de biologia molecular também tem contribuído muito para o avanço do conhecimento de ecologia microbiana. Nesse contexto, o presente capítulo objetiva apresentar ao leitor algumas informações sobre sistemas integrados de produção e a importância de se entender a microbiologia de solos nesses sistemas. Adicionalmente, são apresentadas algumas ferramentas de estudo, clássicas e moleculares, usadas para avaliar indicadores microbiológicos de qualidade solo, prospecção e biodiversidade.

Palavras-chave: DGGE, ecologia microbiana, ilumina, integração lavoura-pecuária-floresta, qualidade de solo

Abstract: The use of integrated production systems is presented as one of the options to ensure improvements in the production of grain, meat and wood with sustainability and conservation of these resources. These integrated systems could present different production settings at the field, and in recent years has increasingly adopted the Integrated Crop-Livestock-Forest (ICLF). The ICLF systems enable the recovery of degraded areas through intensification of land use, increasing the complementary or synergistic effects exist between different plant species and breeding, providing, sustainably increased production per area. Studies about microbial diversity can provide indications of the range and variability in terms of numbers and abundance of species in a particular soil. The strategies for microbial studies currently used has been the microbial biomass, enzyme activity, prospection and biodiversity. Molecular biology tools also has contributed a lot to improve microbial ecology knowledge. In this context, this chapter aims to provide the reader with information on integrated production systems and the importance of understanding the soil microbiology in these systems. In addition, are presented some study tools, classical and molecular, used to assess microbiological indicators of soil quality, prospecting and and biodiversity.

Key Words: DGGE, ilumina, integrated crop-livestock-forest, microbial ecology, soil quality

Introdução

Os programas governamentais do Brasil para o setor agrícola nas décadas de 1970 e 80 contribuíram muito para o desenvolvimento de tecnologias que possibilitaram a abertura de novas fronteiras agrícolas, o que deu início a ocupação do Cerrado e a tecnificação da agropecuária brasileira, em que até hoje tem mostrado profundos reflexos nas safras agrícolas (PASSOS, 2000; KLUTHCOUSKI et al., 2006).

Atualmente, a fronteira agrícola brasileira está inserida dentro da Amazônia Legal, particularmente, as maiores áreas estão localizadas no estado de Mato Grosso. Altas produtividades têm sido alcançadas em razão das condições climáticas favoráveis e a abundante disponibilidade de terras, que apesar da baixa fertilidade natural, são aproveitadas com auxílio de tecnologia agropecuária adequada e disponível (DENARDIN, 2007). Dados do IBGE (2015) relatam que em 2014 a área plantada de soja no Brasil ultrapassou 30 milhões de hectares, e isto está diretamente ligado com incremento na aplicação de insumos agrícolas. Esse cenário é fruto, principalmente, do uso de sistemas de produção baseados na monocultura, o qual ao longo do tempo pode acarretar em aspectos negativos quanto à sustentabilidade ambiental (Mathew et al., 2012).

O sistema de produção agrícola adotado foi pautado na monocultura, na grande propriedade, uso intensivo de adubação química, produtos fitossanitários, mecânica pesada, ocupação de pouca mão-de-obra, utilização de sementes híbridas ou transgênicas e matrizes selecionadas. Modelo de agricultura intensivo, totalmente dependente de insumos externos, amplamente difundido durante a chamada “Revolução Verde” (Paterniani e Paterniani, 2006). Na contra mão desse desenvolvimento, a evolução da pecuária centrou, quase que exclusivamente, na utilização intensa do fator terra em detrimento da intensificação no uso de capital. Desse modo, a pecuária no Cerrado e na Amazônia foi tradicionalmente caracterizada pelo extrativismo, com uso limitado de insumos no sistema de produção, resultando em extensas áreas de pastagens degradadas (Martha Júnior et al., 2007).

No Brasil, a intensificação horizontal (mudança de uso da terra, ou seja, abertura de novas áreas) predominou durante muitos anos. A expansão das áreas agrícolas foi reconhecida como sendo uma causa importante de desmatamento (Morton et al., 2006). Embora, após um período de abertura do cerrado e da floresta amazônica, as duas últimas décadas foram marcada pela adoção de novas práticas culturais que traduzem uma forte mudança no processo de intensificação da agricultura, alterando-se para uma intensificação verticalizada, baseada na alteração do sistema de produção (Brown et al., 2007).

Assim, durante a “Revolução Verde”, foi dada ênfase somente aos inputs externos (fertilizantes, produtos fitossanitários etc) com objetivo de aumentar a produtividade. No entanto, atualmente o sistema de produção deve ser altamente produtivo e ser ambientalmente seguro. Esta dupla exigência é a base da “Revolução Duplamente Verde” (Griffon e Weber 1996) ou uma aproximação da eco-agricultura (Conway et al, 1994; Griffon, 1995), princípios que vão de encontro ao plano proposto pelo programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente, batizado de “New Green Deal” (Novo Pacto Verde), que tem como objetivos o investimento em tecnologias limpas e eficiência energética que ajudem a reduzir as emissões de poluentes causadores do aquecimento global. Princípios que demandam recursos naturais combinados com alta produtividade sustentável, uma “intensificação sustentável” (FREIDRICH, 2010, GARNETT et al., 2013).

A intensificação sustentável têm como objetivo aumentar e diversificar a produção por meio da utilização sustentável dos recursos naturais, baseadas em conservação de solo e ambiente, maximizando o uso dos recursos e a produção agropecuária. Nesse contexto, pode-se destacar práticas agropecuárias, tais como o sistema de plantio direto na palha (SPD), sistema já consolidado adotado a bom tempo, e atualmente a diversificação das atividades associadas ao SPD através da integração lavoura-pecuária, chamados de Sistemas Agropastoris, pecuária-floresta, os Sistemas Silvopastoris, lavoura-floresta, os Sistemas Silviagrícolas e lavoura-pecuária-floresta, os Sistemas Agrossilvipastoris, também denominados de ILPF.

Sistemas agrossilvipastoris

A ideia de combinar atividades de lavoura, pecuária e floresta (ILPF) em um único sistema produtivo não é novidade. É um conceito re-emergido de quando plantas e animais estavam no processo de domesticação, 8 a 10 milênios atrás, cultivados e criados juntos em pequenas áreas para a subsistência (Allen et al., 2007). No entanto, essa prática foi perdida ao longo do tempo com os sistemas contemporâneos de produção agropecuária. Entretanto, ainda hoje a maioria das atividades agrícolas têm sua economia embasada em duas linhas, lavoura e pecuária. Contudo, esse conceito de combinar lavoura e pecuária tem se expandido para além das áreas de pequenos agricultores, para ganhar espaço em atividades agrícolas anteriormente especializadas, mas que agora diversificam suas atividades. Essa estratégia visa, principalmente, responder às expectativas da sociedade mundial na conservação ambiental e ao mesmo tempo obter uma maior produtividade agrícola por menos custos, além de aumentar a produção de alimentos (FAO, 2009).

O interesse em desenvolver e ampliar os sistemas integrados de produção, compostos por práticas sustentáveis, vai ao encontro da necessidade recente e futura da sociedade em aumentar a produção agrícola, sem a degradação do meio ambiente, norteado por ações e políticas éticas (Tilman, 2002). A ideia de sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola tem se alastrado mundialmente visando alcançar maiores rendimentos agropecuários por meio de sistemas menos dependente de insumos externos, especialmente fertilizantes e herbicidas, consequentemente conservando os ciclos biogeoquímicos, água, microclima, biodiversidade e melhorando a qualidade dos solos (Moonen & Bärberi, 2008; Quinkenstein et al., 2009). Esse “novo” método produtivo é uma alternativa à atividade baseada no sistema intensivo convencional, muito aplicado na agricultura brasileira, com o desafio de adotar metodologias capazes de integrar diferentes culturas na mesma área visando o aumento da produção dos sistemas agropecuários (Arvor et al., 2012).

O aspecto ecológico proposto nos sistemas integrados, como é o caso da ILPF, tenta mitigar os efeitos ocasionados ao ecossistema ao longo dos anos em consequência das práticas agrícolas extrativistas e intensivas. Entretanto, a proposta destes sistemas integrados não está baseada somente no conceito ecológico, mas também está atrelada ao incentivo econômico aos produtores rurais (Vayssieres et al., 2011). A rentabilidade do sistema integrado é favorecida por consequência da recuperação da qualidade do solo e da diversificação do sistema de cultivo, diminuindo a vulnerabilidade econômica do produtor diante da variabilidade de produtos presentes no mesmo sistema (Halloran et al., 2008). Segundo a FAO (2009) e Tilman et al. (2002), a diversidade de produtos também amplia a oferta de compra por mercados com proposta de preços competitivos, sendo importante considerar os custos e benefícios das culturas a serem implementadas no sistema, devendo ser fundamentadas na necessidade local, restrições bióticas e a valorização dos produtos no mercado.

A implementação desse sistema integrado partiu dos pecuaristas, sendo conhecido como sistema Barreirão, na tentativa de recuperar/renovar pastagens degradadas e uma cultura forrageira, afim de obter produção de palhada como cobertura para o solo. Essa estratégia de consorciar duas culturas, visa diminuir os custos, riscos climáticos e a correção parcial das limitações físico-químicas e biológicas do solo, porém não perdendo a principal atividade, ou seja, a produção animal (Macedo, 2009).

Em contrapartida, existe o consórcio de culturas anuais com forrageiras tropicais em áreas de lavoura com o solo devidamente corrigido e adubado, objetivando produzir forragem na entressafra e/ou palhada para o sistema plantio direto no ano agrícola. Essa atividade é conhecida como *Sistema Santa Fé* e conforme Kluthcouski et al. (2000) teve início com o objetivo de ensilagem, porém por não exigir a compra de equipamentos e mudanças no cronograma de atividades, se torna uma atividade rentável, além de adicionar condições favoráveis de qualidade ambiental.

Contudo, a um passo mais elaborado desses dois sistemas, Barreirão e Santa Fé, que são variações da integração lavoura-pecuária, ILP, estão os Sistemas Agroflorestais (SAFs) classificados conforme sua estrutura através do tempo, considerando a importância relativa e funcional dos diferentes componentes, assim como os objetivos da produção e as consequências socioeconômicas e adotada pelo International Center for Research in Agroforestry (ICRAF) e pela Rede Brasileira Agroflorestal (REBRAF) (Macedo et al., 2000). Esses sistemas podem ser subdivididos em Silviagrícolas (combinação de árvores, arbustos ou palmeiras com espécies agrícolas); Silvopastoris (combinação de árvores, arbustos ou palmeiras com plantas forrageiras herbáceas e animais); Agrossilvipastoril (criação e manejo de animais em consórcio silviagrícolas) é comumente definido pelo Centro Mundial Agroflorestal (The World Agroforestry Center –

www.worldagroforestry.org) como a integração de árvores em paisagens rurais produtivas, focando a importância do componente arbóreo nos sistemas de produção (Quinkenstein et al., 2009; Iwata et al., 2012).

Nesses sistemas integrados, o componente forrageiro, árvores, e culturas agrícolas são caracterizados por reativar o processo funcional do solo por meio de melhorias nas propriedades físicas, químicas e biológicas (Vanlauwe et al., 2010). Os sistemas florestais promovem maior aporte de material orgânico, formado pela serrapilheira usada como forrageira, assim como na proteção das culturas cultivadas entre as árvores, diminuição da evapotranspiração permitindo melhor uso da água. Nos sistemas agroflorestais, a inclusão de leguminosas na rotação de culturas, como a soja, pode favorecer a produtividade do sistema (Vergé et al., 2007).

Microbiologia e a qualidade do solo

Os microorganismos do solo, também chamados coletivamente de microbiota, são representados por quatro grandes grupos: bactérias, fungos, algas e protozoários. Apesar de constituírem somente 1 a 4 % do carbono total e ocuparem menos de 5 % do espaço poroso do solo, a diversidade e a quantidade dos microorganismos é bastante elevada. Entretanto, como o solo é normalmente um ambiente estressante, limitado por nutrientes, somente 15% a 30% das bactérias e 10% dos fungos encontram-se em estado ativo. Os componentes microbianos vivos do solo são também denominados de biomassa microbiana, em que bactérias e fungos respondem por cerca de 90% da atividade microbiana do solo (Moreira & Siqueira, 2002).

A sustentabilidade dos ecossistemas terrestres está diretamente relacionada aos microorganismos do solo, pois depende dos processos funcionais por eles realizados e que influenciam nas demais propriedades do solo (Chávez et al., 2011). A microbiota é facilmente alterada por mudanças ocasionadas ao solo. No entanto, os microorganismos conseguem, dentro de certos limites, retomar o estado inicial da comunidade microbiana por apresentar características vitais como, rápida multiplicação e atividade metabólica e bioquímica (Six et al., 2004; Six et al., 2006).

A microbiota é indispensável para o funcionamento do solo, na mineralização e síntese da matéria orgânica, na ciclagem de nutrientes, e na formação de agregados do solo (Kamaa et al., 2011). Diversos estudos relatam a importância de fungos micorrízicos e bactérias como determinantes chaves na diversidade, funcionamento e sustentabilidade do ecossistema (Singh et al., 2009; Quecine et al., 2012). Docherty & Gutknecht (2012) enfatizaram a relevância de compreender por meio de diferentes análises da comunidade microbiana do solo, como mudanças ocasionadas ao ambiente por meio da ação antropogênica tem alterado o nosso planeta e suas consequências, além de apontarem a possibilidade de prever mudanças nos ecossistemas, já que a ciclagem de nutrientes nos ciclos biogeoquímicos são catalisados pelos microorganismos.

A sustentabilidade dos sistemas produtivos tem sido questionada diante dos múltiplos efeitos que o solo é submetido durante as práticas de cultivo e as mudanças que podem ocorrer na sua composição inicial. Segundo a FAO (1997) a qualidade do solo está relativamente ligada com o manejo do ambiente e seu uso sustentável. Diante desta realidade, estão surgindo tentativas eficazes em avaliar as possíveis alterações ocasionadas ao solo pelo manejo das culturas agrícolas com o intuito de quantificar a qualidade dos solos sob os diferentes sistemas produtivos (Hubert et al., 1999).

O funcionamento do solo é baseado na interação de diversos processos dos recursos naturais coexistindo para manter a sustentabilidade, por isso avaliar estes processos funcionais é essencial para aferir a qualidade do solo (Karlen et al., 1997; Weil & Magdoff, 2004). De maneira ampla, a qualidade do solo está relacionada com as funções que capacitam o solo a receber, estocar e reciclar água, nutrientes e energia (Carter, 2001). Neste aspecto, os indicadores de qualidade do solo devem ser representativos em relação ao funcionamento presente no solo, integrantes e regedores dos processos controladores do ecossistema, além de serem eficientes e sensíveis em traduzir a situação atual do solo mediante a variações das práticas agrícolas (Doran & Zeiss, 2000).

Powlson et al. (2001) ressaltaram a sensibilidade dos bioindicadores, especificamente os microbiológicos, em refletir condições específicas do meio ambiente, devido o material avaliado ser vivo e pela maior variabilidade espacial e temporal. Dentre os bioindicadores de qualidade do solo, Nogueira et al. (2006) e Schloter et al. (2003) enfatizaram a eficácia em utilizar atributos relacionados a processos microbiológicos, como a densidade de grupos funcionais de microorganismos, biomassa microbiana, respirometria, processo de mineralização de carbono e nitrogênio, atividade enzimática, entre outros.

Segundo Mendes et al. (2009), existem indicadores químicos, físicos e biológicos que podem ser usados como indicadores de qualidade do solo. Dentre os atributos biológicos que podem ser utilizados como bioindicadores de qualidade é possível destacar o carbono da biomassa microbiana, a respiração medida por meio do carbono prontamente mineralizável, o CO₂ evoluído a partir de amostras incubadas sem fumigação, índices derivados como o quociente metabólico e quociente microbiano, atividade de enzimas do solo relacionadas aos ciclos do C, P e S (β -glucosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, respectivamente), a biodiversidade de espécies microbianas e a diversidade funcional.

A biomassa microbiana do solo é uma associação complexa de tecidos vivos ou mortos e de substâncias orgânicas ou inorgânicas transformadas ou em seu estado original (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Ainda, segundo os autores, a matéria orgânica morta é composta por 98% do carbono orgânico do solo e a fração viva não ultrapassa 1 a 5%. Sendo uma fração lábil da MOS solo, a biomassa microbiana pode, de fato, refletir mudanças na MOS e no desenvolvimento do solo. Vários pesquisadores têm considerado a biomassa microbiana como um índice útil para determinar a contribuição da MOS para estabilidade dos agregados e qualidade do solo (GUPTA; GERMIDA, 1988; HAYNES; SWIFT, 1990). Entretanto, é importante observar que altos valores de biomassa microbiana nem sempre significam solos com alta fertilidade ou produtividade.

O tempo de ciclagem, preferencialmente a quantidade de biomassa microbiana é de fundamental importância para a fertilidade, além de estar estritamente relacionada ao manejo do solo. Para prever os efeitos do manejo sobre a MOS, entretanto, ambos, o tamanho e o tempo de ciclagem da biomassa microbiana deverão ser conhecidos

(FERNANDES et al., 1997). Além da biomassa microbiana, outros fatores que podem ser utilizados como indicadores de qualidade do solo são a atividade de enzimas do solo relacionadas aos ciclos do C, P e S (β -glucosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, respectivamente), a análise funcional metabólica e a biodiversidade microbiana. Essa última, em especial, é de suma importância para ampliar e/ou potencializar a aplicação prática de microrganismos na agricultura. Isso se deve ao fato de que paralelamente aos estudos de biodiversidade também é possível fazer a bioprospecção de grupos funcionais de microrganismos; a ser abordado mais a frente nesse capítulo.

Os bioindicadores são essenciais na compreensão e determinação da resposta de um ambiente sob determinado manejo ou estratégia de uso do solo, assim resultando nas melhores estratégias de manejo do solo (Spaccini et al., 2001). Scopel et al. (2012) relacionaram o incremento da macrofauna (presença de minhocas, caramujos, lesmas, camundongos, aranhas, nematóides, besouros) e maior atividade microbiana (biomassa microbiana, atividade enzimática relacionada aos ciclos do carbono, fósforo e enxofre) sob solo manejado por práticas conservacionistas, comparado aos sistemas convencionais na agricultura. Os autores ressaltaram ainda que esses sistemas conservacionistas podem proporcionar condições mais favoráveis à atividade biológica do solo.

Rousseau et al. (2012) interligaram atributos abióticos bem conceituados no âmbito de qualidade do solo com indicadores biológicos e observaram que os sistemas agroflorestais apresentaram qualidade do solo semelhante à de florestas, consideradas como áreas referências por pressupor manterem o funcionamento estável das propriedades físicas, químicas e biológicas pela não dependência de insumos externos, garantindo assim a sustentabilidade do ecossistema. Os autores correlacionaram a macrofauna com quatro atributos abióticos (densidade do solo, soma de bases, pH e carbono) e observaram a relação da maior abundância de predadores com o fluxo adequado de energia e com a maior qualidade do solo, evidenciando a capacidade de indicadores biológicos em mensurar a qualidade do solo.

Assumindo a importância do papel funcional das bactérias em termos ecológicos, surge a necessidade de desvendar a diversidade destes microrganismos dentro do solo. Diversas comunidades microbianas interagem no solo, sendo que a bacteriana pode apresentar variações de espécies e gêneros conforme a qualidade do solo. A variação também pode existir em nível de subespécie, indicando uma extensa diversidade genotípica dentro de um ecossistema devido à recombinação genética de certas espécies (Robinson & Bruce, 2002).

O cultivo mínimo ou conservador, comumente associado ao plantio direto e à rotação de culturas, tende a direcionar o sistema produtivo para a sustentabilidade, conforme relatado por Melero et al. (2009) que comparando o sistema de cultivo conservacionista a curto e longo período por meio da integração de diferentes culturas (cereal – girassol – leguminosa) com o cultivo tradicional, obtiveram como resultado um aumento do carbono ativo e da biomassa microbiana de carbono para o sistema conservador no longo período, assim como também para as atividades enzimáticas do solo relacionadas à mineralização do carbono orgânico, na camada de 0-5 cm do solo. Os autores concluíram que o carbono ativo, por apresentar alta correlação positiva com atividade enzimática no cultivo conservador, mostrou ser o melhor indicador para avaliar os efeitos as práticas de manejo do solo. Do mesmo modo, Ingram et al. (2008) correlacionaram o cultivo conservador com maior estoque de matéria orgânica no solo e a preservação de suas propriedades biológicas, favorecendo a qualidade do solo.

Plassart et al. (2008) observaram que diferentes sistemas de manejo, sistema intensivo de lavoura, pastagem permanente, pastagem com rotação de culturas e pastagem recém estabelecidas, influenciaram a estrutura genética e a atividade da comunidade microbiana do solo. A área sob pastagem permanente aumentou a comunidade de bactérias e de fungos. A diversidade genética de fungos apresentou alta relação com as áreas sob pastagem. A biomassa microbiana total do solo e a mineralização do carbono aumentaram gradualmente do sistema convencional para as áreas sob pastagem. Os autores concluíram que o manejo do solo está associado a mudanças na comunidade microbiana, e que o sistema de cultivo convencional induz a perdas funcionais do solo.

A conversão de sistemas convencionais para sistemas de integração tem mostrado resultados positivos nas propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo e no ciclo dos nutrientes devido ao aumento dos teores de matéria orgânica do solo, contribuindo para maior produtividade do sistema (Liebig & Varvel, 2003; Russell et al., 2006). Espécies florestais e arbustos melhoram a qualidade do solo por meio da diversificação de matéria orgânica, promovendo o resgate de nutrientes de camadas mais profundas do solo por meio das raízes, além disso, formando embaixo do dossel um ambiente diferenciado com benefícios de temperaturas amenas aos animais devido ao sombreamento (Kaur et al., 2002; Diedhiou et al., 2009; Reis et al., 2010). A estrutura da comunidade microbiana do solo, distribuição e abundância, tanto é alterada pela condição do fator abiótico (físico e químico) quanto pelo fator biótico (interação entre espécies/fonte de nutrientes). Geralmente, os microrganismos estão distribuídos na camada mais superficial do solo, entre 0-10 cm de profundidade, em função da interação com a comunidade vegetal. Conforme a espécie vegetal, sistema radicular, estágio de desenvolvimento, localidade e composição dos exsudatos, ocorre uma influência sobre a comunidade microbiana do solo, ora aumentando ora diminuindo a biomassa microbiana, estrutura genética e potencialidade metabólica (Beniziri et al., 2005; Calbrix et al., 2007).

Singh et al. (2009) observaram que, dentre os fatores abióticos avaliados em áreas naturais com diferentes espécies de plantas, a umidade do solo é o atuante na estrutura e funcionalidade da comunidade bacteriana. Houve baixo impacto na relação interespecífica entre espécie vegetal e microrganismos, indicando que a comunidade microbiana do solo não é influenciada apenas por um fator abiótico ou biótico, mas sim pela interação dos dois. Da mesma forma, Thoms et al. (2010) e Padel et al. (2011) também encontraram resultados em concordância sob a interação da espécie vegetal com a comunidade microbiana do solo. No entanto, as maiores interações foram as relacionadas aos fatores abióticos, como pH e teores de nutrientes do solo, concluindo que a diversidade vegetal de plantas interage de forma indireta com os microrganismos do solo.

A diversidade metabólica e atividade microbiana do solo sob sistema de integração lavoura pecuária em plantio direto sofreram alterações diante da intensidade de pastejo contínuo, onde a maior diversidade funcional da microbiota e a atividade microbiana foi observada em tratamento com ajuste de carga animal com menor intensidade de pastejo

(Chávez et al., 2011). Clegg (2006), Papatheodorou et al. (2008) e Wakelin et al. (2009) enfatizam que pastejo intenso e contínuo acarreta na perda da diversidade microbiana do solo, além de redução da quantidade de matéria orgânica retornável ao solo, diminuição da abundância de macroporos e menor disponibilidade de oxigênio ao solo.

Lenka et al. (2012) com o objetivo de identificar o melhor sistema de cultivo capaz de recuperar áreas degradadas na Índia, avaliaram a retenção de água no solo, carbono e padrão de agregação e observaram que o estoque de carbono orgânico no solo aumentou sob os tratamentos agroflorestais (planta frutífera + forrageira) em comparação ao controle. O incremento de carbono orgânico ao solo aumentou linearmente em relação à forrageira (*Stylosanthes hamata*), grama natural e no controle. O solo apresentou maior proporção de macroagregados e carbono orgânico para todos os sistemas agroflorestais. Entretanto, o melhor sistema foi a associação de Goiabeiras com *Stylosanthes hamata*. Resultados similares para o estoque de carbono no solo foram encontrados por Saha et al. (2010) que obtiveram maior estoque sob áreas compostas por múltiplas espécies de árvores associadas a diversas culturas quando comparadas a áreas sob monocultivo de arroz, principalmente nas camadas mais profundas do solo.

Kumar et al. (2012) avaliaram sistemas integrados compostos por diferentes componentes e a reciclagem dos recursos produzidos em cada modelo integrado. O modelo integrado lavoura + peixe + pato + cabra resultou em maior renda líquida, maior número de empregados temporários e melhor índice de sustentabilidade, estimado pelo reaproveitamento de 73,1% dos recursos gerados e reutilizáveis dentro do próprio sistema, retornáveis na forma de material orgânico. Ramos et al. (2010) avaliando duas espécies de culturas (*Avena sativa* L. e *Vicia sativa* L.), dois tipos de fertilização (mineral e orgânica) submetidas a três modos de pastejo animal e comparando a sistema sob frequente manejo em áreas semi-áridas, também observaram que os sistemas integrados apresentaram melhorias nas propriedades físicas e químicas do solo, pela estabilidade de agregados e aumento nos teores de carbono e nitrogênio orgânico do solo.

Nos sistemas ILPF, a oferta de matéria orgânica do solo (MOS) é contínua, devido a presença das árvores e plantas forrageiras, além dos dejetos animais dispostos aleatoriamente na área, com significativas melhorias nos atributos químicos, físicos e microbiológicos e também no acúmulo de carbono na biomassa vegetal e no solo (BALBINO et. al.; 2011; LOSS et. al., 2014). A diversidade em sistemas integrados tem uma função importante na manutenção da estrutura e do papel do ecossistema. Os ecossistemas naturais geralmente seguem o princípio de que mais diversidade permite a maior resistência à perturbação e a interferência. Assim, ecossistemas com alta diversidade tendem a se recuperar mais rapidamente de perturbações e restaurar o equilíbrio em seus processos de ciclagem de materiais e fluxo de energia quando comparados aos ecossistemas com baixa diversidade, onde a perturbação pode provocar mais facilmente modificações permanentes no seu funcionamento, resultando na perda de recursos do ecossistema e em alterações na constituição de suas espécies. Isso ocorre, pois a diversidade da biota do solo depende do material vegetal disponível, variando de acordo com cada espécie em cultivo misto ou monocultivo.

Recentemente, avanços no campo da biologia molecular tem permitido o desenvolvimento de técnicas capazes de obter maiores informações sobre grande número de microorganismos que não podem ser cultivados em laboratório, possibilitando o melhor conhecimento dessa diversidade com a descoberta de novas espécies.

Diversidade microbiana e prospecção

Nas últimas décadas os estudos de microrganismos para uso na agricultura tem aumentado de forma consistente, focando principalmente na fixação biológica de nitrogênio, controle biológico, promoção de crescimento vegetal, bem como a investigação de padrões de colonização e transferência desses microrganismos nas plantas. Para realização de estudos de ecologia microbiana têm sido utilizadas técnicas dependentes e independentes do cultivo bacteriano permitindo um melhor conhecimento sobre a diversidade microbiana.

Essas técnicas, embasadas na biologia molecular, tem possibilitado acessar com maior critério e sensibilidade a diversidade microbiana, e dessa forma avaliar o efeito de diferentes variáveis nesta diversidade. Juntamente com as técnicas moleculares, os diferentes tipos de microscopia, como a eletrônica de varredura, eletrônica de transmissão e óptica de fluorescência, tem possibilitado estudos importantes de interação de microrganismos e plantas *in situ*, independentes de cultivo desses microrganismos.

As técnicas normalmente utilizadas para avaliar as comunidades microbianas do solo e de plantas são baseadas, em sua maioria, em isolamentos em meios de cultivo. Essa forma de estudo dificulta a obtenção e acesso aos microrganismos que não crescem nas condições utilizadas, dificultando uma análise global dessas comunidades. No entanto, para o estudo e bioprospecção de microrganismos potenciais para uso na agricultura é necessário cultivá-los em meios de cultura. Esse procedimento se faz necessário para que os microrganismos possam ser submetidos a testes, em larga escala, específicos para as potencialidades agrícolas que se tem interesse, como por exemplo, fixadores de nitrogênio, solubilizadores de fosfato, produtores de hormônio de crescimento vegetal, controladores de fitopatogenos, controladores de insetos praga, entre outros.

Muitos estudos têm demonstrado que apenas uma pequena porção da diversidade microbiana total é acessada por meio das técnicas baseadas em cultivo (TYSON; BANFIELD, 2005), restringindo, dessa forma, os estudos a grupos microbianos já conhecidos. O problema de pouca amostragem de espécies de microrganismos cultivados se deve, em parte, a restrita base nutritiva presente nos meios de cultivo normalmente empregados nesses estudos (tradicionais). Uma alternativa a esse problema de baixa amostragem é abordar o estudo de forma inversa, onde primeiro investiga-se se os microrganismos alvo estão presentes em um determinado tipo de solo ou planta e posteriormente se realizam adaptações nutritivas aos meios de cultivo tradicionais. Nesse caso, é necessária uma abordagem inicial para estudo dos microrganismos não cultivados presentes, a qual é realizada com uso de técnicas de biologia molecular.

Com intuito de reduzir as dificuldades decorrentes de métodos dependentes do cultivo, o interesse tem sido focalizado no desenvolvimento dessas técnicas de biologia molecular. Essas podem permitir o estudo de populações microbianas presentes nos mais diversos tipos de solo. Os métodos moleculares são ferramentas importantes para

conhecer a estrutura e a diversidade microbiana em amostras ambientais, podendo ser analisada por meio de fragmentos específicos de RNAr 16S ou de genes cromossômicos que os codificam, notadamente o DNAr 16S. Neste contexto, as análises do 16S rDNA tem sido largamente utilizadas, especificamente para bactérias em ambiente naturais (LOUWS & RADEMAKER; ANDREOTE et al., 2006; LACAVALA et al., 2006; KUKLINSKY-SOBRALE et al., 2004; KUKLINSKY-SOBRALE et al., 2005).

Segundo Amman & Ludwig (2000), a sequência do gene 16S é considerada importante para desenvolver diferentes marcadores moleculares pois i) estão presentes em todos os organismos e são essenciais para a síntese de proteínas; ii) são conservadas estruturalmente e funcionalmente; iii) apresentam tanto regiões conservadas quanto variáveis e altamente variáveis, na estrutura primária e secundária; iv) têm tamanho satisfatório, com cerca de 1500 nucleotídeos, suficientes para fazer inferências filogenéticas (LECKIE, 2005).

A partir dos produtos da PCR, a avaliação parcial da comunidade pode ser analisada por eletroforese e clonagem gênica. A análise por eletroforese é baseada na geração de perfis provenientes da separação física da sequência de genes do rDNA em um gel, englobando as técnicas de DGGE, ARDRA, T-RFLP, RISA, RAPD e caracterizada por apresentar a capacidade de determinar a estrutura genética da comunidade bacteriana (FERREIRA et al., 2008). A análise por clonagem gênica é realizada com a criação de uma biblioteca de sequências de genes clonados, possibilitando avaliar a diversidade genética e identificar populações taxonômica e funcionalmente diferentes. A avaliação total da informação gênica da comunidade bacteriana tem continuidade com o DNA extraído e pode ser analisada por hibridização cruzada, fracionamento e cinética de reassociações (RANJARD et al., 2000).

A análise da comunidade bacteriana pela técnica de DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) tem sido bem empregada no estudo da estrutura e diversidade genética. Essa técnica permite identificar diferenças baseadas na desnaturação da dupla fita de DNA em um ambiente desnaturante crescente, onde se separam fragmentos chamados de domínios de desnaturação (MUYZER et al., 1993). A metodologia separa fragmentos de genes amplificados em PCR de mesmo tamanho, mas difere na composição dos pares de base por uma reação de eletroforese em gel com gradiente de desnaturação. A análise separa amplicons em gel de poliacrilamida contendo um gradiente desnaturante linear, contendo uréia e formamida, além de temperatura de corrida (60 °C) (Bio-Rad Laboratories, USA). A DGGE exige técnica laboratorial para a calibração do reagente desnaturante e os iniciadores possuem grampos de bases de nucleotídeos CG. Desta maneira, as sequências amplificadas são influenciadas pelo gradiente desnaturante durante a eletroforese. As amostras amplificadas com diferentes composições de GC na sequência são separadas pela migração das bandas ao longo do gel formando um complexo de perfis de bandas representando a diversidade da comunidade bacteriana do solo (RANJARD et al., 2000; Sakurai et al., 2007; Dell'Amico et al., 2008; Clivot et al., 2012).

A técnica de DGGE é comumente usada para comparar a estrutura genética da comunidade microbiana em solos diferentes ou submetidos a qualquer tipo de perturbação das propriedades físicas, químicas e biológicas (Chu et al., 2007; Desai et al., 2009; Núñez et al., 2012). Pode-se avaliar a complexidade da comunidade microbiana obtida através da diferença entre os perfis de bandas em gel de poliacrilamida e agrupá-las em grupos taxonômicos a partir do emprego de computadores e técnicas avançadas de análise multivariada, compondo a estrutura da comunidade microbiana por meio de unidades operacionais taxonômicas (OTUs), discriminando a diversidade microbiana avaliada em árvores filogenéticas e dendogramas (OSWALD, 1992).

A DGGE pode ser utilizada tanto para estudos de diversidade bacteriana e fúngica total, utilizando conjuntos de iniciadores chamados “universais” para o gene 16S e 18S DNAr respectivamente (HEUER et al., 1997; Vainio & Hantula, 2000), quanto para estudar grupos bacterianos específicos como alfa e beta proteobactéria e actinobactérias (Ferro et al., 2010; Qiao et al., 2012). Outra possibilidade é o uso da técnica de DGGE para estudos de genes específicos como, por exemplo, o gene *rpoB* (PEIXOTO et al., 2002) e também alguns genes funcionais como o gene *nifH* e *amoA* (ROSADO et al., 1998; CHU et al., 2007; INNEREBNER et al., 2006).

A maior vantagem na metodologia da DGGE é a possibilidade de monitorar mudanças, espacial e temporal na estrutura da comunidade microbiana e permitir observar as espécies microbianas dominantes. A limitação está relacionada à informação gênica proveniente das populações microbianas, restrita a fragmentos de 500 pares de bases da sequência do 16S RNAr, pois acima deste valor a confiabilidade da análise perde a precisão em separar corretamente as bases, ocasionando possíveis perdas de especificidade requeridas para identificar filogeneticamente algumas bactérias no momento de comparar as sequências obtidas contra a base de dados do *GenBank* (MALIK et al., 2008).

Considerando a importância da comunidade microbiana em promover a sustentabilidade do ecossistema e manter a qualidade e saúde do solo, Montecchia et al. (2011) avaliaram o comportamento estrutural e funcional da comunidade microbiana do solo sob diferentes manejos e vegetações. Os padrões de bandas provenientes da análise de DGGE foram agrupados e foi identificado o domínio de comunidades bacterianas relacionadas com o manejo do solo. Foram definidos sete grupos baseados no nível de similaridade de 70%. Duas áreas sob florestas se distanciaram dos demais grupos; em área sob recente desmatamento florestal, a comunidade bacteriana obteve maior similaridade em relação à área sob monocultura de soja por 20 anos, assim como para áreas cultivadas com cana de açúcar sob histórico de uso da terra por 40 e 100 anos, respectivamente.

Nesta perspectiva, avaliar a estrutura microbiana do solo por meio de técnicas moleculares tem visado elucidar manejos causadores de distúrbios na qualidade do solo. Peixoto et al. (2006), comparando sistemas de manejos convencional e conservacionista, observaram por análise de PCR/DGGE por meio dos genes 16S RNAr e *rpoB*, diferenças na comunidade bacteriana, evidenciando o uso da metodologia como indicador de qualidade do solo através de mudanças ocasionadas na estrutura bacteriana do solo. Wang et al. (2009) investigaram o efeito de três sistemas de manejo sobre a estrutura da comunidade bacteriana do solo em três profundidades. A partir da análise do 16S RNAr por meio de PCR-DGGE, o perfil de bandas indicou diminuição na camada mais superficial do solo (0-10 cm) em relação às demais profundidades, sugerindo assim maior população microbiana, porém com a estrutura bacteriana de menor

diversidade. Os autores identificaram a predominância de 11 grupos bacterianos não cultiváveis por meio do recorte e sequenciamento de 14 bandas provenientes da DGGE.

A aplicação correta e balanceada de fertilizantes no solo condiciona a mudanças na estrutura da comunidade microbiana do solo, como foi relatado por Chu et al. (2007), em campo experimental avaliado por 16 anos. Esses autores detectaram diferenças na estrutura da comunidade bacteriana em solo tratado com resíduo orgânico observado na análise filogenética advinda do resultado da DGGE pela seleção de genes 16S RNAr, do domínio Eubacteria, indicando incremento na diversidade populacional bacteriana devido ao estímulo do composto incorporado ao solo, como o aumento do gênero de *Bacillus* sp., microorganismo natural daquele solo. Ferrero et al. (2010) analisaram a comunidade bacteriana rizosférica de pastagens nativas em diferentes altitudes em áreas sob alta radiação solar e aridez por meio da técnica de PCR-DGGE, incluindo o cultivo dependente e independente, revelaram somente a riqueza de bandas em relação à diferença de altitude, porém com baixa diversidade bacteriana e dominância de *Bacillus* e *Pseudomonas* nos grupos filogenéticos.

Oliveira et al. (2009) avaliaram a diversidade funcional e genética de bactérias associadas à rizosfera de genótipos de milho quanto à eficiência de uso de fósforo, por meio do teste de fontes de carbono em eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE) dos fragmentos amplificados dos genes 16S ribossomais (rDNA) das bactérias. Não houve diferença na diversidade bacteriana entre bactérias associadas a genótipos eficientes e ineficientes no uso de P. Com base no sequenciamento do 16S DNAr, foi verificado que a rizosfera de genótipos de milho sob estresse de P parece selecionar grupos específicos de bactérias. A estrutura populacional genética de bactérias da rizosfera foi mais influenciada pelo teor de fósforo no solo do que pela eficiência das plantas em usar o fósforo. O uso dessas ferramentas moleculares possibilita avaliar tanto as comunidades microbianas cultivadas, quanto as não cultivadas nos meios de cultura normalmente utilizados para estudá-los (Dourado et al., 2012). Dessa forma, a biologia molecular pode auxiliar no estudo e monitoramento do componente microbiológico do solo como indicadores de sua qualidade.

Além da técnica de DGGE outra ferramenta molecular disponível é a metagenômica, a qual tem sido amplamente empregada para determinar a composição a nível taxonômico da comunidade microbiana, como também obter sua frequência e diversidade dos mais variados ambientes; além de poder monitorar a dinâmica populacional das comunidades (KENNEDY et al., 2007). Estes estudos são possíveis através das novas ferramentas tecnológicas aprimoradas em 2005 e hoje o acesso vem crescendo por todo o mundo. São os chamados Nova Geração de Sequenciadores (NGS) (CARVALHO et al., 2010).

Os NGS são representados pelos sequenciadores da plataforma 454 FLX da Roche, Solexa da Illumina, da SOLiD da Applied Biosystem e também já existe os novos lançamentos das plataformas de segunda geração de sequenciadores (SGS) da Ion Torrent, HeliScope, 5500 SOLiD, PacBio RS e do Illumina com a plataforma MiSeq (Illumina, San Diego, CA, USA). Independente da tecnologia selecionada, a maioria dos sequenciadores identifica as sequências das bases nitrogenadas por reações químicas, geram arquivos eletrônicos em formato de dados que as representam e, por fim, são manipulados em ferramentas computacionais gratuitas. Ressaltando que cada tipo de sequenciamento tem suas peculiaridades, conforme o objetivo a ser alcançado no estudo.

A tecnologia para a plataforma MiSeq oferece kits de reagentes para estudos de metagenômica. Dentre as particularidades do processo, estão: a) combinação da sequência alvo (amostra) com oligonucleotídeos conhecidos (*barcode*) aderidos à adaptadores específicos e mistura de todas as amostras em único “*mix*”; b) ligação do oligonucleotídeo da amostra com o oligonucleotídeo complementar presente na base da plataforma MiSeq; c) polimerização da nova fita complementar a sequência alvo seguido da sua desnaturação e lavagem da mesma; d) oligonucleotídeo localizado na outra extremidade da sequência alvo se liga com o outro tipo de oligonucleotídeo presente na base do Illumina; e) inicia o processo de amplificação e a clonagem de milhões de cópias da sequência originalmente alvo representado região do gene 16S RNAr; f) separação das cópias das sequências alvo conforme seu respectivo barcode. Conforme avaliado em Caporaso et al. (2012), o tempo para sequenciar 2167 amostras com seus respectivos barcodes - cada referente a uma amostra - foi de 12 h. Cada amostra gerou 740 sequências provenientes de sequência pareadas com 150 pb (pares de bases) e dentro do orçamento total de US\$800 dólares. O resultado rápido e de baixo custo pode ser explicado pelo método misturar todas as amostras em uma única plataforma do sequenciador (termo definido como “*multiplexing*”).

Giongo et al. (2010), na tentativa de identificar microorganismos presente em amostras de areia e poeira comparando metodologias de sequenciamento, puderam verificar cem vezes mais microorganismos com a tecnologia Illumina™ em relação ao método por isolamento, cultivo, clonagem e sequenciamento. Além disso, dentre duas bases de dados referentes à procariontes conseguiram classificar mais de 50 % das sequências quando usaram a RDP (Ribosomal Database Project) em comparação a base de dados SILVA (2014). Entretanto, a base de dados SILVA (2014) tem ganhado citações no campo de referência científica, voltadas para pesquisas de sequenciamento de RNAr, tendo alcançando mais de 2000 vezes o número de citações em 2014. Além disso, Quast et al. (2013) afirmam que a base de dados SILVA contém extensa informação de dados não redundantes para as subunidades 16S, 18S e 23S, 28S em constante atualização e sequências de boa qualidade referente aos domínios *Bacteria*, *Archaea*, *Eukarya*. O aumento da acuracidade do sequenciamento pela tecnologia Illumina, para detectar microorganismos com baixa abundância relativa em amostras ambientais, foi analisada por Bartram et al. (2011), os autores conseguiram desenvolver uma metodologia menos onerosa em comparação aos sequenciadores Sanger e Roche. A redução das sequências com erros e o aumento da eficácia do sequenciamento devido a utilização de *primers* com maior número de pares de bases (sequências pareadas com 150 pb cada) juntamente com *primers* sinalizadores (6 pb). Além de, enfatizarem pela primeira vez uma metodologia com acesso a organismos de baixa abundância relativa e sua possível comparação de diversidade taxonômica presente no complexo das comunidades microbianas.

Considerações finais

Os sistemas agrosilvipastoris são alternativas promissoras quanto ao potencial produtivo agropecuário e florestal devido as práticas sustentáveis decorrentes do manejo e uso adequado do solo, correspondendo ao novo conceito mundial de maior produção alimentar atrelado a conservação dos recursos naturais. A sustentabilidade destes sistemas integrados pode ser estudada pelo uso de indicadores microbiológicos de qualidade de solo por meio de técnicas clássicas e moleculares de estudo. Essas informações possibilitam que os agricultores, agrônomos, técnicos ligados ao setor rural e comunidade científica em geral sejam informados e conscientizados da importância do manejo adequado e conservação dos solos e da biodiversidade presente nos mesmos

Literatura citada

- ALLEN, V.G.; BAKER, M.T.; SEGARRA, E. et al. Integrated irrigated crop-livestock systems in dry climates. *Agron J*, v. 99, p. 346–360, 2007.
- AMMAN, R. & LUDWIG, W. Ribosomal RNA-targeted nucleic acid probes for studies in microbial ecology. - *FEMS Microb Ecol*, v. 24, p. 555–565, 2000.
- ANDREOTE, F.D.; LAÇAVALA, P.T.; GAI, C.S.; ARAÚJO, W.L.; MACCHERONI, W.; VAN OVERBEEK, L.S.; VAN ELSAS, J.D.; AZEVEDO, J.L. Model plants for studying the interaction between *Methylobacterium mesophilicum* and *Xylella fastidiosa*. *Canadian Journal of Microbiology*, Ottawa, v.52, p.419-426, 2006.
- ARVOR, D.; MEIRELLES, M.; DUBREUIL, V. Analyzing the agricultural transition in Mato Grosso, Brazil, using satellite-derived indices. *App Geog*, v. 32, p. 702–713, 2012.
- BALBINO, L. C.; BARCELLOS, A. STONE, L. F. (Ed. tec.). Marco referencial: Integração Lavoura-Pecuária-Floresta. Reference document: crop-livestock-forestry integration. Brasília, DF: Embrapa, 2011.
- Bartram, A. K., Lynch, M. D. J., Stearns, J. C., Moreno-Hagelsieb, G., & Neufeld, J. D. (2011). Generation of multimillion-sequence 16S rRNA gene libraries from complex microbial communities by assembling paired-end illumina reads. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 3846–52. doi:10.1128/AEM.02772-10
- BROWN, J. C.; JEPSON, W. E.; KASTENS, J. H.; WARDLOW, B. D.; LOMAS, J.; PRICE, K. P. (2007) Multitemporal, Moderate- Spatial-Resolution Remote Sensing of Modern Agricultural Production and Land Modification in the Brazilian Amazon, *GIScience & Remote Sensing* v.44, n.2, p.117-148.
- CALBRIX, R.; BARRAY, S.; CHABRERIE, O.; FOURRIE, L. & LAVAL, K. Impact of organic amendments on the dynamics of soil microbial biomass and bacterial communities in cultivated land. *Applied Soil Ecology*, v. 35, p. 511–522, 2007.
- CAPORASO, J.G. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal* 6, 1621–1624. 2012.
- CARTER, M.R. Organic matter and sustainability. In: REES, B.C.; BALL, B.C.; CAMPBELL, C.D. et al. (eds). *Sustainable management of soil organic*. Wallingford, CAB International, 2001. p. 9-22.
- Carvalho, M. C. da C. G., & Silva, D. C. G. (2010). Next generation DNA sequencing and its applications in plant genomics. *Ciência Rural*, 40, 735–744.
- CHÁVEZ, L.F.; ESCOBAR, L.F.; ANGHINONI, I. et al. Diversidade metabólica e atividade microbiana no solo em sistema de integração lavoura-pecuária sob intensidades de pastejo. *Pes Agrop Bras*, v. 46, p. 1254–1261, 2011.
- CHU, H.; LIN, X.; FUJII, T.; MORIMOTO, S.; YAGI, K.; HU, J.; ZHANG, J. Soil microbial biomass, dehydrogenase activity, bacterial community structure in response to long-term fertilizer management. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 39, p. 2971–2976, 2007.
- CLEGG, C.D; ATTARD, E.; DEGRANGE, V.; et al. Impact of cattle grazing and inorganic fertiliser additions to managed grasslands on the microbial community composition of soils. *S Biol Bioc*, v. 31, p. 73–82, 2006.
- CLIVOT, H.; PAGNOUT, C.; ARAN, D.; DEVIN, S.; BAUDA, P.; POUPIN, P.; GUÉROLD, F. Changes in soil bacterial communities following liming of acidified forests. *Applied Soil Ecology*, v. 59, p. 116– 123, 2012.
- CONWAY, G.; CARSALADE, H.; GRIFFON, M. (1994) *Une agriculture durable pour la sécurité alimentaire mondiale*. Paris. CIRAD-URPA/ECOPOL.
- DELL'AMICO, E.; MAZZOCCHI, M.; CAVALCA, L.; ALLIEVI, L.; ANDREONI, V. Assessment of bacterial community structure in a long-term copper-polluted ex-vineyard soil. *Microbiological Research*, v. 163, p. 671–683, 2008.
- DENARDIN, J.E.; KOCHHANN, R.A.; DENARDIN, N.D. Sistemas Agrícolas produtivos: fator de promoção da fertilidade integral do solo. In: DECHEN, S.C.F. (org.). **WORKSHOP SOBRE O SISTEMA PLANTIO DIRETO NO ESTADO DE SÃO PAULO**, Campinas, 2005. Piracicaba: Fundação Agrisus; FEALQ / Campinas: IAC, 2007. p.155-167.
- DESAI, C.; PARIKH, R. Y.; VAISHNAV, T.; SHOUCHE, Y. S.; MADAMWAR, D. Tracking the influence of long-term chromium pollution on soil bacterial community structures by comparative analyses of 16S rRNA gene phylotypes. *Research in Microbiology*, v. 160. p. 1-9, 2009.
- DIEDHIOU, S.; DOSSA, E.L.; BADIANE, A.N.; et al. Decomposition and spatial microbial heterogeneity associated with native shrubs in soils of agroecosystems in semi-arid Senegal. *Pedob*, v. 52, p. 273–286, 2009.
- DOCHERTY, & GUTKNECHT. The role of environmental microorganisms in ecosystem responses to global change: current state of research and future outlooks. *Biog*, v. 109, p. 1–6, 2012.
- DORAN, J.W. & ZEISS, M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *App S Eco*, v. 15, p. 3–11, 2000.
- DOURADO, M.N.; FERREIRA, A.; ARAÚJO, W.L.; AZEVEDO, J.L.; LACAVALA, P. T. The Diversity of Endophytic Methylophilic Bacteria in an Oil-Contaminated and an Oil-Free Mangrove Ecosystem and Their Tolerance to Heavy Metals. *Biotechnology Research International*, v. 2012, p. 1-8, 2012.

- FAO, Land quality indicators and their use in sustainable agriculture and rural development. Land and Water Bulletin n°. 5. Rome, 1997, 212 pp.
- FAO, Food and Agriculture Organization of The United Nations. The state of food and agriculture: livestock in the balance. Rome, 2009.
- FERNANDES, E.C.M., MOTAVALLI, P.P., CASTILLA, C., MUKURUMBIRA, L. Management control of soil organic matter dynamics in tropical land-use systems. **Geoderma** 79, p. 49-67, 1997.
- FERREIRA, A.; QUECINE, M.C.; LACAVAL, P.T.; ODA, S.; AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. Diversity of endophytic bacteria from *Eucalyptus* species seeds and colonization of seedlings by *Pantoea agglomerans*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 287, p. 8-14, 2008.
- FERRERO, M.A.; MENOYO, E.; LUGO, M.A. et al. Molecular characterization and in situ detection of bacterial communities associated with rhizosphere soil of high altitude native Poaceae from the Andean Puna region. **J Ar Env**, v. 74, p. 1177-1185, 2010.
- FREIDRICH, T. Sustainable crop production intensification and the global development of conservation agriculture: The FAO's view (intensificação da produção de lavouras sustentáveis e o desenvolvimento mundial da Agricultura de Conservação: A visão da FAO). In: CROP WORLD CONGRESS & EXHIBITION, Londres, 2010. Proceedings... Londres, FAO, 2010.
- GARNETT, T.; APPLEBY, M. C.; BALMFORD, A.; BATEMAN, I. J.; BENTON, T. G.; BLOOMER, P.; BURLINGAME, B.; DAWKINS, M.; DOLAN, L.; FRASER, D.; HERRERO, M.; HOFFMANN, L.; SMITH, P.; THORNTON, P. K.; TOULMIN, C.; VERMEULEN, S. J.; GODFRAY, H. C. J. Sustainable Intensification in Agriculture: premises and policies. **Science**, v. 341, July 2013, p.33-34.
- GIONGO, A., et al., PANGEA: pipeline for analysis of next generation amplicons. **The ISME Journal** 4, 852-861. 2010.
- GRIFFON, M. (1995) Elements of technological perspectives for a Doubly Green Revolution. Towards a Doubly Green Revolution. Proceedings of a seminar. Poitiers. Futuroscope. CIRAD-FPI. Paris, p.135-153.
- GRIFFON, M.; WEBER, J. (1996) La « Révolution doublement verte » : économie et institutions. **Cahiers Agriculture**, v.5 : p. 239-42.
- GUPTA, V.V.S.R. & GERMIDA, J.J. Distribution of microbial and its activity in different soil aggregate size classes as affected by cultivation. **Soil Biol. Biochem.** 20: 777-786, 1988.
- HALLORAN, J.M. & ARCHER, D.W. External economic drivers and US agricultural production systems. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 23, p. 296-303, 2008.
- HAYNES, R.J. & SWIFT, R.S. Stability of soil aggregates in relation to organic constituents and soil water content. **J. Soil Science**. 41:73-83, 1990.
- HEUER, H.; KRSEK, M.; BAKER, P.; SMALLA, K.; WELLINGTON, E. M. H. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. **Applied and Environmental Microbiology**, v.63, p.3233-3241, 1997.
- HUBERT, C.; SHEN, Y.; VOORDOUW, G. Composition of toluene- degrading microbial communities from soil at different concentrations of toluene. **App Env Microb**, v. 65, p. 3064 - 3070 1999.
- INGRAM, L.J.; STAHL, P.D.; SCHUMAN, G.E.; et al Grazing impacts on soil carbon and microbial communities in a mixed-grass ecosystem. **S Sc Soc Am J**, v. 72, p. 939-948, 2008.
- INNEREBNER, G.; KNAPP, B.; VASARA, T.; ROMANTSCHUK, M.; INSAM, H. Traceability of ammonia-oxidizing bacteria in compost-treated soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38, p. 1092-1100, 2006.
- IWATA, B. F.; LEITE, L. F. C.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L.; GEHRING, C. & CAMPOS, L. P.. Sistemas agroflorestais e seus efeitos sobre os atributos químicos em Argissolo Vermelho-Amarelo do Cerrado piauiense. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, p.730-738, 2012.
- KAMAA, M.; MBURU, H.; BLANCHART, E.; et al. Effects of organic and inorganic fertilization on soil bacterial and fungal microbial diversity in the Kabete long-term trial, Kenya. **Bio Fert S**, v. 47, p. 315-321, 2011.
- KARLEN, D.L.; MAUSBACH, M.J.; DORAN, J.W.; et al. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation. **S Sc Soc Am J**, v. 61, p. 4-10, 1997.
- KAUR, B.; GUPTA, S.; SINGH, G. Bioamelioration of a sodic soil by silvopastoral systems in northwestern India. **Agrof Sys**, v. 54, p. 13-20, 2002.
- KENNEDY, A.C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agric EcosEnv**, v. 74, p. 65-76, 1999.
- Kennedy, J., Marchesi, J. R., & Dobson, A. D. W. (2007). Metagenomic approaches to exploit the biotechnological potential of the microbial consortia of marine sponges. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 75(1), 11-20. doi:10.1007/s00253-007-0875-2
- KLUTHCOUSKI, J.; COBUCCI, T.; AIDAR, H.; et al. Sistema Santa Fé: tecnologia Embrapa: integração lavoura-pecuária pelo consórcio de culturas anuais com forrageiras, em áreas de lavoura, nos sistemas direto e convencional. In: **CIRCULAR TÉCNICA**, 38. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2000. 28p.
- KLUTHCOUSKI, J., AIDAR, H., COBUCCI, T., STONE, L. F., THUNG, M. D. T., BALBINO, L. C., SILVA, C. C., OLIVEIRA, F. R. Integração lavoura-pecuária: estudo de caso vivenciado pela Embrapa Arroz e Feijão. In: **PATERNIANI, E. (Ed.) Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília, DF: Embrapa informação Tecnológica, p.277-330. 2006.
- KUKLINSKY-SORBRAL, J.; ARAUJO, W. L.; MENDES, R.; OLIVIO, G.; PIZZIRANI-KLEINER, A. P.; AZEVEDO, J. L. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. **Environment Microbiology**, v. 6, p.1244-1251, 2004.
- KUKLINSKY-SORBRAL, J.; MENDES, R.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A.; AZEVEDO, J. L. Isolation and characterization of endophytic bacteria from soybean (*Glycine max*) grown in soil treated with glyphosate herbicide. **Plant Soil**, v. 273, p. 91-99, 2005.

- KUMAR, S.; SUBASH, N.; SHIVANI, S.; SINGH, S. S. & DEY, A. Evaluation Of Different Components Under Integrated Farming System (Ifs) For Small And Marginal Farmers Under Semihumid Climatic Environment. *Experimental Agriculture*, v.48, p. 399-413, 2012.
- LACAVA, P.T.; LI, W.B.; ARAÚJO, W.L.; AZEVEDO, J.L.; HARTUNG, J.S. Rapid specific and quantitative assays for the detection of the endophytic bacterium *Methylobacterium mesophilicum* in plants. *Journal of Microbiology Methods*, Amsterdam, v.65, p.535-541, 2006.
- LECKIE, S.E. Methods of microbial community profiling and their application to forest soils. *F Eco Man* v. 220, p. 88–106, 2005.
- LENKA, N.K.; CHOUDHURY, P.R.; SUDHISHRI, S.; et al. Soil aggregation, carbon build up and root zone soil moisture in degraded sloping lands under selected agroforestry based rehabilitation systems in eastern India. *Agric Ecos Env*, v. 150, p. 54–62, 2012.
- LIEBIG, M.A. & VARVEL, G.E. Effects of western Corn Belt cropping systems on agroecosystem functions. *Agron J*, v. 95, p. 316–322, 2003.
- LOSS, A.; RIBEIRO, E. C.; PEREIRA, M. G.; COSTA, E. M. Atributos físicos e químicos do solo em sistemas de consórcio e sucessão de lavoura, pastagem e silvipastoril em Santa Teresa, ES. *Biosci. J.*, Uberlandia, v. 30, n. 5, p. 1347-1357, 2014.
- LOUWS, F.J.; RADEMAKER, J.L.W.; DE BRUIJN, F.J. The three Ds of PCR-based genomic analysis of phytopathogens: Diversity, detection, and disease diagnosis. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v.37, p.81-125, 1999.
- MACEDO, M. C. M. Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. *Rev Bras Zoot*, v. 38, p. 133-146, 2009.
- MALIK, S.; BEER, M.; MEGHARAJ, M.; et al. The use of molecular techniques to characterize the microbial communities in contaminated soil and water. *Env Int*, v. 34, p. 265–76, 2008.
- MARTHA JR., G. B.; VILELA, L.; MACIEL, G. A. (2007) A prática da integração lavoura-pecuária como ferramenta de sustentabilidade econômica na exploração pecuária. In: Simpósio de Forragicultura e Pastagens, 6., 2007, Lavras. Anais... Lavras: UFLA, p. 367-391.
- MELERO, S.; LÓPEZ-GARRIDO, R.; MURILLO, J. M. & MORENO, F. Conservation tillage: Short- and long-term effects on soil carbon fractions and enzymatic activities under Mediterranean conditions. *Soil and Tillage Research*, v. 104, p. 292–298, 2009.
- MENDES, I.C. , HUNGRIA, M., REIS JUNIOR, F.B., FERNANDES, M.F., CHAER, G.M., MERCANTE, F.M.; ZILLI, J.E. Bioindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade? Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009. 31p. (Doc. 246).
- MONTECCHIA, M.S.; CORREA, O.S.; SORIA, M.A.; et al. Multivariate approach to characterizing soil microbial communities in pristine and agricultural sites in Northwest Argentina. *App S Eco*, v. 47, p. 176–183, 2011.
- MOONEN, A.C. & BÀRBERI, P. Functional biodiversity: An agroecosystem approach. *Agric Ecos Env*, v. 127, n. 1-2, 7–21, 2008.
- MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002. 625p.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2.ed. atual. e ampl. Lavras: UFLA, 2006. 729p.
- MORTON, D. C.; DEFRIES, R. S.; SHIMABUKURO, Y. E.; ANDERSON, L. O.; ARAI, E.; ESPIRITO-SANTO, F. D. B.; FREITAS, R. M.; MORISSETTE, J. Cropland expansion changes deforestation dynamics in the southern Brazilian Amazon. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.103, n.39, p.14637-14641, 2006.
- MUYZER, G., WAAL, E.C., UITTERLINDEN, A.G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes encoding for 16S rRNA. *Applied Environmental Microbiology*, v.59, p. 695-700, 1993.
- NOGUEIRA, M.A.; ALBINO, U.B.; BRANDÃO-JÚDIOR, O.; et al. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. *Agric Ecos Env*, v. 115, p. 237-247, 2006.
- NÚÑEZ, E. V.; VALENZUELA-ENCINAS, C.; ALCÁNTARA-HERNÁNDEZ, R. J.; NAVARRO-NOYA, Y. E.; LUNA-GUIDO, M.; MARSCH, R.; DENDOOVEN, L. Modifications of bacterial populations in anthracene contaminated soil. *Applied Soil Ecology*, v. 61, p. 113–126, 2012.
- OLIVEIRA, C.A.D.; MARRIEL, I.E.; GOMES, E.A.; et al. Contrastantes na eficiência de uso de fósforo. *Pes Agro Bra*, v. 44, p. 1473–1482, 2009.
- OSWALD, E. T. Forest site classification activities in Northern Canada. **For. Chr.**, v. 68, p. 94-99, 1992.
- PAUDEL, B.R.; UDAWATTA, R.P.; & ANDERSON, S.H.; Agroforestry and grass buffer effects on soil quality parameters for grazed pasture and row-crop systems. *App S Eco*, v. 48, p. 125–132, 2011.
- PAPATHEODOROU, E.M.; EFTHIMIADOU, E.; STAMOU, G.P. Functional diversity of soil bacteria as affected by management practices and phenological stage of *Phaseolus vulgaris*. *European Journal of Soil Biology*, v. 44, p. 429 – 436, 2008.
- PASSOS, M. M. A construção da paisagem no Mato Grosso-Brasil. Presidente Prudente: Programa de Pós-graduação em Geografia, 2000.
- PATERNIANI, M. L. S.; PATERNIANI, E. (2006) Dos primórdios à modernidade: uma breve história da agricultura. In: Paterniani, E. (Ed.) *Ciência, agricultura e sociedade*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.195-226.

- PEIXOTO, R. S.; COUTINHO, H. L. D.; RUMJANEK, N. G.; MAGRAE, A.; ROSADO, A. S. Use of *rpoB* and 16S rRNA genes to analyse bacterial diversity of a tropical soil using PCR and DGGE. *Letters in Applied Microbiology*, v. 35, p. 316-320, 2002.
- PEIXOTO, R.S.; COUTINHO, H.L.C.; MADARI, B.; et al. Soil aggregation and bacterial community structure as affected by tillage and cover cropping in the Brazilian Cerrados. *S Til Res*, v. 90, p. 16–28, 2006.
- PLASSART, P.; VINCESLAS, M. A.; GANGNEUX, C.; MERCIER, A.; BARRAY, S., & LAVAL, K. Molecular and functional responses of soil microbial communities under grassland restoration. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v.127, p. 286–293, 2008.
- POWLSON, D. S.; GREGORY, P. J.; WHALLEY, W. R.; et al. Soil management in relation to sustainable agriculture and ecosystem services. *F Pol*, v. 36, p. 572–587, 2011.
- QIAO, Y. J.; LI, Z. Z.; WANG, X.; ZHU, B.; HU, Y. G.; ZENG, Z. H.. Effect of legume-cereal mixtures on the diversity of bacterial communities in the rhizosphere. *Plant Soil Environment*, v. 58, p. 174–180, 2012.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., ... Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41, 590–96.
- QUECINE, M.C.; ARAÚJO, W. L.; ARAUJO, W. L.; FERREIRA, A.; ROSSETTO, P. B.; TSUI, S.; LACAVA, P.T.; MONDIN, M.; Azevedo, J. L.; PIZZIRANI-KLEINER, A.A. Sugarcane Growth Promotion by the Endophytic Bacterium *Pantoea agglomerans* 33.1. *Applied and Environmental Microbiology (Print)*, v. 78, p. 7511-7518, 2012.
- QUINKENSTEIN, A.; LLECKE, J.W.; BÖHM, C. et al. Ecological benefits of the alley cropping agroforestry system in sensitive regions of Europe. *Env Sc Pol*, v.12, p. 1112 – 1121, 2009.
- RAMOS, M.E.; BENÍTEZ, E.; GARCÍA, P.A. et al. Cover crops under different managements vs. frequent tillage in almond orchards in semiarid conditions: Effects on soil quality. *App S Eco*, v. 44, p. 6–14, 2010.
- RANJARD, L.; POLY, F. & NAZARET, S. Monitoring complex bacterial communities using culture-independent molecular techniques: application to soil environment. *Res Microb*, v. 151, p. 167–77, 2000.
- REIS, G.L.; LANA, A.M.Q.; MAURÍCIO, R.M.; LANA, R.M.Q.; MACHADO, R.M.; BORGES, I. & QUINZEIRO, T.N. Influence of trees on soil nutrient pools in a silvopastoral system in the Brazilian Savannah. *Plant Soil*, v.329, p.185–193, 2010.
- ROBINSON, C.H & BRUCE, K.D. Natural microbial communities. In: KEITH-ROACH, M.J. & LIVENS, F.R. (Ed.). *Interactions of microorganisms with radionuclides*. United Kingdom: Elsevier Science, 2002, p. 1–35.
- ROSADO, A. S.; DUARTE, G. F.; SELDIN, L.; VAN ELSAS, J. D. Genetic diversity of *nifH* gene sequences in *Paenibacillus azotofixans* strains and soil samples analyzed by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments. *Applied and environmental Microbiology*, 64, p. 2770-2779, 1998.
- ROUSSEAU, G.X.; DEHEUVELS, O.; ARIAS, I.; et al. Indicating soil quality in cacao-based agroforestry systems and old-growth forests: The potential of soil macrofauna assemblage. *Eco Ind*, v. 23, p. 535–543, 2012.
- RUSSELL, A.E.; LAIRD, D.A.; MALLARINO, A.P. Nitrogen fertilization and cropping system impacts on soil quality in Midwestern Mollisols. *Soil Sc Soc Am J*, v. 70, p. 249–255, 2006.
- SAHA, S. K.; RAMACHANDRAN, P. K. N.; NAIR, V. D.; KUMAR, B. M. Carbon storage in relation to soil size-fractions under tropical tree-based land-use systems. *Plant Soil*, v.328, p.433–446, 2010.
- SAKURAI, M.; SUZUKI, K.; ONODERA, M.; SHINANO, T.; OSAKI, M. Analysis of bacterial communities in soil by PCR–DGGE targeting protease genes. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 39, p. 2777–2784, 2007.
- SCHLOTTER, M.; DILLY, O.; MUNCH, J.C. Indicators for evaluating soil quality. *Agric Ecos Env*, v. 98, p. 255-262, 2003
- SCOPEL, E.; TRIOMPHE, B.; AFFHOLDER, F.; et al. Conservation agriculture cropping systems in temperate and tropical conditions, performances and impacts. A review. *Agro Sust Dev*. publicado online, 05 setembro de 2012.
- SILVA, E. Avaliação qualitativa de impactos ambientais do reflorestamento no Brasil. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.
- SINGH, B.K.; DAWSON, L.A.; MACDONALD, C.A.; et al. Impact of biotic and abiotic interaction on soil microbial communities and functions: A field study. *Ap S Eco*, v. 41, p. 239–248, 2009.
- SIX, J.; OGLE, S.M.; BREIDT, F.; et al. The potential to mitigate global warming with no-tillage management is only realized when practised in the long term. *Gl Ch Biol*, v. 10, 155–160, 2004.
- SIX, J.; FREY, S.D.; THIET, R.K.; et al. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Sc Soc Am J*, v. 70, p. 555–569, 2006.
- SPACCINI, R.; ZENA, A.; IGWE, C.A.; et al. Carbohydrates in water-stable aggregates and particle size fractions of forested and cultivated soils in two contrasting tropical ecosystems. *Biog*, v. 22, p. 1-22, 2001.
- THOMS, C.; GATTINGER, A.; JACOB, M.; et al. Direct and indirect effects of tree diversity drive soil microbial diversity in temperate deciduous forest. *Soil Biol Bioc*, v. 42, p. 1558–1565, 2010.
- TILMAN, D.; CASSMAN, K.G.; MATSON, P.A.; et al. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, v. 418, p. 671-677, 2002.
- TYSON, G.W.; BANFIELD, J.F. Cultivating the uncultivated: a community genomics perspective. **Trends in Microbiology**, v. 13, p. 411-415, 2005.
- VAINIO, E. J. & HANTULA, J. Direct analysis of wood-inhabiting fungi using denaturing gradient gel electrophoresis of amplified ribosomal DNA. *Mycological Research*, v. 104, p. 927-936, 2000.
- VANLAUWE, B.; BATIONO, A.; CHIANU, J.; et al. Integrated soil fertility management: operational definition and consequences for implementation and dissemination. *Out Agric*, v. 39, p. 17–24, 2010.
- VAYSSIÈRES, J.; VIGNE, M.; ALARY, V. & LECOMTE, P. Integrated participatory modelling of actual farms to support policy making on sustainable intensification. *Agricultural Systems*, v. 104, p.146–161, 2011.

- VERGÉ, X.P.C.; KIMPE, C.; & DESJARDINS, R.L. Agricultural production; greenhouse gas emissions and mitigation potential. *Agric Forest Meteor*, v. *142*, p. 255–269, 2007.
- WAKELIN, S. A.; GREGG, A. L.; SIMPSON, R. J.; LI, G. D.; RILEY, I. T. & MCKAY, A. C. Pasture management clearly affects soil microbial community structure and N-cycling bacteria. *Pedobiologia* 52 (2009) 237—251
- WANG, G.H.; JIN, J.; LIU, J.J.; et al. Bacterial Community Structure in a Mollisol Under Long-Term Natural Restoration, Cropping, and Bare Fallow History Estimated by PCR-DGGE. *Pedosphere*, v. *19*, 156–165, 2009(Weil & Magdoff, 2004).