



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E
RECURSOS NATURAIS

**Avaliação do efeito do fogo sobre a riqueza e abundância de
protozoários em um solo do Cerrado (Reserva Legal de Cerrado no
município de São Carlos – *campus* UFSCar – SP)**

Mayara Pierozzi

São Carlos

2013



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E
RECURSOS NATURAIS

**Avaliação do efeito do fogo sobre a riqueza e abundância de
protozoários em um solo do Cerrado (Reserva Legal de Cerrado no
município de São Carlos – *campus* UFSCar – SP)**

Mayara Pierozzi

São Carlos

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

Avaliação do efeito do fogo sobre a riqueza e abundância de protozoários em um solo do Cerrado (Reserva Legal de Cerrado no município de São Carlos – *campus* UFSCar – SP)

Mayara Pierozzi

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais, sob orientação da Profa. Dr^a. Mirna Helena Regali Seleglim.

São Carlos

2013

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

P619ae Pierozzi, Mayara.
Avaliação do efeito do fogo sobre a riqueza e abundância de protozoários em um solo do Cerrado (Reserva Legal de Cerrado no município de São Carlos – campus UFSCar – SP) / Mayara Pierozzi. -- São Carlos : UFSCar, 2013.
59 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.

1. Ecologia. 2. Protozoários. 3. Queimada. 4. Diversidade biológica. 5. Seca. 6. Solo. I. Título.

CDD: 574.5 (20^a)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Relatório de Defesa de Dissertação

Candidata: Mayara Pierozzi

Aos 01/02/2013, às 08:30, realizou-se na Universidade Federal de São Carlos, nas formas e termos do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, a defesa de dissertação de mestrado sob o título: Avaliação do efeito do fogo sobre a riqueza e abundância de protozoários em um solo do Cerrado (Reserva Legal de Cerrado no município de São Carlos campus UFSCar SP), apresentada pela candidata Mayara Pierozzi. Ao final dos trabalhos, a banca examinadora reuniu-se em sessão reservada para o julgamento, tendo os membros chegado ao seguinte resultado:

Participantes da Banca

Profa. Dra. Mirna Helena Regali Selegim
Profa. Dra. Odete Rocha
Profa. Dra. Isabel Cristina Vidal Siqueira de Castro

Função	Instituição
Presidente	UFSCar
Titular	UFSCar
Titular	UNICAMP

Conceito

aprovada
Aprovada
Aprovada

Resultado Final: aprovada

Parecer da Comissão Julgadora*:

Encerrada a sessão reservada, o presidente informou ao público presente o resultado. Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada e, para constar, eu, João Augusto da Silva Affonso, representante do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, lavrei o presente relatório, assinado por mim e pelos membros da banca examinadora.



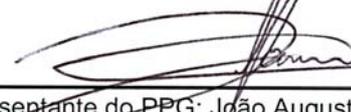
Profa. Dra. Mirna Helena Regali Selegim



Profa. Dra. Odete Rocha



Profa. Dra. Isabel Cristina Vidal Siqueira de Castro



Representante do PPG: João Augusto da Silva Affonso

Não houve alteração no título da dissertação () Houve. O novo título passa a ser:

*Obs: Se o candidato for reprovado por algum dos membros, o preenchimento do parecer é obrigatório.

Para gozar dos direitos do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais, a candidata ainda precisa ter sua dissertação homologada pelo Conselho de Pós-Graduação da UFSCar.

Dedico este trabalho
aos meus pais
Marisa e Wilson
pelo amor, apoio,
dedicação, amizade
e confiança.

*“ A natureza reservou para si tanta liberdade
Que não a podemos nunca penetrar completamente
Com o nosso saber e a nossa ciência. ”*

Johann Wolfgang von Goethe

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre esteve ao meu lado, iluminando meu caminho e me protegendo.

À Profa. Dr^a. Mirna Helena Regali Selegim, pela confiança, amizade e oportunidade de realizar este trabalho, e por todos os ensinamentos.

À Darci pela paciência, amizade, carinho e por sempre estar disposta a me ajudar com qualquer problema que surgisse.

À Dr^a Isabel Cristina Vidal Siqueira de Castro pela ajuda e contribuições.

Aos amigos e colegas de trabalho do laboratório: Caio, Helena, Zaryf e Rafaela, pelo apoio, incentivo e momentos de descontração. Agradeço em especial a Bru e a Laine, pela amizade, paciência e disposição em sempre me ouvir e me ajudar em qualquer momento.

Aos amigos Henrique, Karina e Érica que mesmo estando longe sempre estão me apoiando e torcendo por mim.

As minhas amigas Josi e Pri, pelo companheirismo, carinho, amizade, lealdade e paciência nesses anos, sempre me ouvindo, me ajudando e tornando a minha pós-graduação mais leve e a vida mais divertida.

À minha família, especialmente meus pais, Marisa e Wilson, meus irmãos, Monise e Maurício, que sempre me encorajaram, apoiaram, consolaram, se desesperaram junto e me ajudaram em todos os momentos. E a minha avó Pina e ao meu tio Beto pela paciência, carinho e apoio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa concedida (proc. N^o15624-4) que muito auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, ao Laboratório de Ecologia de Microrganismos Aquáticos do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos pelo suporte e auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

Sumario

Lista de Figuras.....	i
Lista de siglas e abreviações.....	ii
Resumo.....	iii
1. Introdução ao Problema	1
1.1. Cerrado e o Efeito do Fogo	5
2. Objetivos	7
3. Metodologia	8
3.1. Local de coleta	8
3.2 Coleta e Análise do solo.....	9
3.2.1 Dados Climatológicos	14
3.2.2 Análise granulométrica do solo.....	15
3.2.3 Análise da qualitativa da diversidade críptica de protozoários (Método do “Non-Flooded Petri Dish”)	15
3.2.4 Análise qualitativa e quantitativa dos protozoários ativos	17
3.2.5 Identificação taxonômica dos protozoários ciliados - Técnica de Protargol.....	19
4. Forma de Análise dos Dados.....	21
6. Discussão.....	43
6.1. Relação entre variáveis ambientais e biológicas	43
6.2. Diversidade, riqueza e abundância.....	44
7. Conclusões	51
8. Referências Bibliográficas	53

Lista de Figuras

Figura 1.....	10
Figura 2.....	11
Figura 3.....	12
Figura 4.....	13
Figura 5.....	13
Figura 6.....	14
Figura 7.....	17
Figura 8.....	19
Figura 9.....	25
Figura 10.....	28
Figura 11.....	29
Figura 12.....	32
Figura 13.....	33
Figura 14.....	34
Figura 15.....	35
Figura 16.....	37
Figura 17.....	38
Figura 18.....	39
Figura 19.....	40
Figura 20.....	40
Figura 21.....	40
Figura 22.....	40
Figura 23.....	41
Figura 24.....	41

Lista de Siglas e Abreviações

C – região Controle

Q – região Queimada

Prot. - protozoário

mL – mililitros

µm – micrômetro

mm - milímetro

cm - centímetro

Eto – evapotranspiração

g – grama

Kg – kilograma

ha – hectare

S – sul

O – oeste

min. – minuto

sp – morfo-espécies

N – nitrogênio

C – carbono

Dp – desvio padrão

Rad. – radiação

Vel. – Velocidade

Umid. Rel. – Umidade Relativa

Temp. – Temperatura

s – segundo

c/ - com

s/ - sem

Resumo

Os protozoários são componentes importantes da rede alimentar de ambientes aquáticos e terrestres. Nos ambientes terrestres, são vorazes predadores de bactérias e, sendo assim, podem causar alterações nessa comunidade, o que é muito importante para um solo fértil. Considerando que o fogo é um evento comum e frequente em solos agrícolas e naturais, especialmente em regiões de cerrado, este trabalho se propõe a avaliar os efeitos do fogo sobre a comunidade de protozoários no solo de uma região com vegetação de cerrado. Foram realizadas 16 coletas entre os meses de agosto de 2011 a agosto de 2012 em um local exposto à queimada e um controle não exposto. Para a avaliação da diversidade críptica de protozoários das amostras coletadas foi utilizada a técnica de “Non-Flooded Petri Dish” (placa de Petri umedecida). Em paralelo, foi realizada a análise qualitativa e quantitativa de protozoários ativos no solo, bem como a análise granulométrica do solo. Para a análise dos dados foram utilizados os índices de Jaccard e Shannon, coeficiente de similaridade de Bray-Curtis e análise de correspondência canônica. Foram encontradas 102 morfo-espécies, distribuídas em 12 grupos de protozoários. Destas, somente 32 morfo-espécies, distribuídas em 9 grupos taxonômicos, se encontraram ativas. A análise de correspondência canônica evidenciou que as variáveis que apresentaram associação com os dados biológicos foram: temperatura média do ar, umidade relativa média do ar, evapotranspiração, areia grossa, areia média e argila, pois estas segundo o Teste de Monte Carlo se mostraram significantes. O índice de Jaccard mostrou que as regiões Controle e a Queimada são similares. O valor escolhido para delimitar os agrupamentos foi de 0,45. O teste de similaridade de Bray-Curtis também mostrou similaridade entre as regiões analisadas, sendo 0,60 o valor escolhido para delimitar os agrupamentos. O índice de Shannon reforça que os ambientes são realmente similares, pois o desvio padrão da região controle está inserido no desvio padrão da região queimada, significando que se trata do mesmo ambiente. A similaridade de Bray-Curtis e índice de Shannon consideram tanto a riqueza quanto abundância, já o índice de Jaccard considera apenas riqueza. Em relação à densidade de protozoários, o fogo não causou mudanças inicialmente. Três semanas após a ocorrência do fogo houve uma redução na densidade de protozoários. Posteriormente, três meses após o fogo, com as condições favoráveis do solo houve um aumento na densidade de protozoários, desencistamento e reprodução. Após esta fase, três meses e meio após ocorrência do fogo, ocorreu uma redução na densidade de protozoários em ambas as regiões, densidade se equiparou. Desta forma, é possível observar que o fogo não causa uma mudança na estrutura da comunidade de protozoários; apenas causa uma redução na densidade. Pois o fogo não apresentou um efeito direto sobre esta comunidade, este causou um efeito indireto intensificando a seca, sendo assim, os protozoários mostraram-se adaptados ao ambiente a aos efeitos do fogo.

1.Introdução ao Problema

O interesse em estudar a diversidade microbiana aumentou muito nessa última década. As razões para isso foram não apenas as mudanças aceleradas e danos severos às paisagens naturais, mas também evidências recentes que associam alta diversidade microbiana a benefícios ao funcionamento de ecossistemas (Laakso e Setälä, 1999; Griffiths *et al.*, 2000), como disponibilização de nutrientes através da decomposição da matéria orgânica.

A microbiota do solo é a principal responsável pela decomposição dos resíduos orgânicos, pela ciclagem de nutrientes e pelo fluxo de energia dentro do solo, exercendo influência tanto na transformação da matéria orgânica, quanto na estocagem do carbono e nutrientes minerais (Jenkinson e Ladd, 1981), sendo que os protozoários de solo têm um efeito direto na mineralização, decomposição de nutrientes/ciclagem principalmente devido à grande proporção (~ 60%) dos nutrientes ingeridos e excretados de volta ao ambiente do solo (Bardgett, 2005).

Sabe-se que o solo comporta grande parte da biodiversidade da Terra, e, possivelmente, mais de meio milhão de espécies de procariontes (Torsvik *et al.* 1996). Grande parte desta diversidade é ainda desconhecida e quanto aos protozoários de solo, 70 a 80% da sua diversidade, que correspondem à 1600-2000 espécies, ainda não foram identificadas (Foissner, 1997). Estudos realizados por Foissner *et al.* (2007) sobre a diversidade de ciliados ocorrentes em 359 amostras de solo provenientes da África, Ásia, Austrália, América do Sul e Europa ressaltam, o registro de 964 espécies, das quais 320 foram descritas. A distribuição de frequência de espécies foi utilizada para estimar diversidade regional e global. Aplicando-se o estimador de cobertura baseado na abundância (ACE) e foi obtido que, pelo menos, em todos os continentes metade da

diversidade é ainda desconhecida, sendo que um mínimo de 1.928 ainda não foram descritas, corroborando com os dados obtidos por Foissner (1997) que utilizou um método baseado na probabilidade.

O solo é um ambiente heterogêneo no tempo e no espaço. A atividade microbiana e da microfauna geralmente são concentradas em sítios localizados próximos de resíduos orgânicos (Ekelund *et al.*, 2002) ou na rizosfera (Paul, 2007), pois os microrganismos do solo são limitados pelo carbono (Wardle, 1992) e seu crescimento é ativado pelos excretados (carbono) das raízes das plantas (Semenov, 1999) ou pela entrada de resíduos de matéria orgânica fresca no solo. O aumento de biomassa bacteriana faz com que o número de protozoários bacterívoros e de nematóides aumente até 40 vezes em relação ao solo adjacente à rizosfera (Griffiths, 1990). As populações de protozoários seguem rapidamente as mudanças nas populações bacterianas devido a sua ocorrência ubíqua e seus curtos tempos de geração (Ronn *et al.*, 1996).

Além da influência da matéria orgânica e das raízes, outros fatores também têm sido citados como controladores da abundância e distribuição dos protozoários de solo como pH, umidade, geometria dos poros e tipo de húmus (Cowling, 1994; Smith, 1996; Stout e Heal, 1967 *apud* Acosta-Mercado e Lynn, 2004). No solo, os grupos de protozoários frequentemente encontrados são: ciliados, flagelados heterotróficos, amebas nuas e tecamebas. Outros tipos raramente são encontrados, por exemplo, o gênero *Actinomonas* (Febvre-Chevalier, 1990) que foi relatado algumas vezes em solo (Foissner, 1991).

Em ecossistemas de solos, protozoários são conspícuos (Berthold e Palzenberger, 1995), atuando como predadores e presas de outros microrganismos (Clarholm, 1981),

influenciando o desenvolvimento e a atividade metabólica das comunidades bacterianas (Pussard *et al.*, 1994; Griffiths *et al.*, 1999).

O estudo de protozoários de solo foi estimulado pela hipótese de Russell e Hutchinson (1909), que dizia que os protozoários tornavam o solo menos fértil, reduzindo o número de bactérias. No entanto, estudos posteriores demonstraram que os protozoários estimulam a atividade bacteriana e, além disso, desempenham um papel importante na regulação das mesmas. Sabe-se hoje que, no solo, os protozoários regulam e modificam o tamanho e o tipo de comunidade bacteriana (Gel'ter, 1991), aceleram o “turnover” de biomassa microbiana e nutrientes (Vargas e Hattori, 1990) provêm nutrientes pela excreção direta (Zwart e Brussaard, 1991) que consequentemente aumenta a biomassa vegetal (Kuikman *et al.*, 1990; Alpehi *et al.*, 1996). Segundo Foissner (1987), os protozoários ciliados contribuem significativamente para a respiração no solo e são excelentes bioindicadores. Aproximadamente 70% da respiração total de organismos do solo pode ser atribuída aos protozoários (Sohlenius, 1980; Foissner, 1987).

Questões sobre a ocorrência de protozoários ativos no solo ou se estes só permaneciam em sua forma encistada foram objeto de debate. Entretanto, estas questões foram resolvidas com o trabalho de Martin e Lewin (1914) que mostraram que esses podem ocorrer na sua forma ativa no solo. Quando ativos, o seu crescimento e reprodução aumentam com a elevação da temperatura e disponibilidade de alimento e cessam devido ao encistamento (Sleigh, 1973). O crescimento e a reprodução são governados por um complexo de variáveis ambientais e fatores biológicos.

Os cistos, comuns em protozoários de solo, permitem que eles sobrevivam sob condições desfavoráveis como, falta de alimento, umidade, falta de oxigênio e temperaturas muito elevadas. Segundo Foissner (1987), sob condições favoráveis eles

podem rapidamente, em questão de horas, desencistar e se tornarem ativos, os cistos podem ser considerados como forma de dispersão. Mas mesmo em condições ótimas, boa parte pode permanecer encistada (inativos) e, muitos ficam, dessa forma, a maior parte do tempo no solo. Segundo Ekelund *et al.* (2002) os fatores que governam a dinâmica das células encistadas e ativas no solo não são bem compreendidas, em parte por dificuldades metodológicas de estudo. Dessa maneira, fala-se em diversidade críptica como sendo aquela que não está ativa no ambiente, mas sim presente na forma de cistos.

Estudo realizado por Krashevskia *et al.* (2012) teve como finalidade analisar a diversidade, densidade e estrutura da comunidade de tecamebas, consideradas um importante grupo de protistas do solo de florestas tropical montanhosa, no Sul do Equador na área de Reserva Biológica San Francisco. Em “Litterbags” (sacos de liteira) contendo lixo puro e misto de duas espécies de árvores abundantes no local (*Graffenrieda emarginata* e *Purdiaea nutans*) em diferentes concentrações de nitrogênio foram expostas no campo, por 12 meses. A densidade e diversidade de tecamebas foram maiores na amostra de *Graffenrieda* rica em nitrogênio, sugerindo que as funções do nitrogênio são um fator importante para a condução de comunidades protista do solo.

Crotty *et al.* (2012), utilizando isótopos radioativos, avaliaram o papel dos protozoários de solo na mineralização da biomassa microbiana, e conseqüentemente na ciclagem do carbono (C) e do nitrogênio (N), em pastos e bosques com o mesmo tipo de solo. Nematóides, colembolas, minhocas e larvas de insetos obtiveram as maiores quantidades de C e N, seja pelo consumo direto de protozoários ou absorção de biomassa.

Os protozoários de solos tropicais são pouco conhecidos, entretanto, segundo Foissner (2000), os poucos dados disponíveis indicam que esses solos são habitados por uma comunidade altamente diversificada. Para o cerrado não foram encontrados dados na literatura que descrevam tais comunidades.

1.1. Cerrado e o Efeito do Fogo

O cerrado é o segundo maior bioma do Brasil. Possui duas estações climáticas bem marcadas, uma úmida, de outubro a março, e uma seca, de abril a setembro (Klink e Machado, 2005). Possui solo deficiente em nutrientes e rico em ferro e alumínio, abriga plantas de aparência seca, entre arbustos esparsos e gramíneas. O cerrado caracteriza-se por um mosaico de fitofisionomia, incluindo fisionomias campestres (campo limpo, campo úmido), fisionomias savânicas (campo sujo, campo cerrado, campo rupestre, cerrado típico e cerrado denso) e fitofisionomias florestais (cerradão) (Coutinho, 1978a; Ribeiro e Walter, 2008). Esse bioma é considerado importante corredor e local de criação de espécies que habitam a Amazônia e a Floresta Atlântica (Quirino *et al.*, 2009).

Segundo Oliveira e Marquis (2002), aproximadamente 35% dessa cobertura natural de cerrado foi convertida em áreas de agricultura e pastagem. Porém, de acordo com os dados do IBGE 2010, a área de Cerrado no Brasil foi reduzida pela metade (de 2.038.953 Km² foi para 1.052.708 Km²) apresentando uma área total desmatada de 986.247 Km² até 2008 (IBGE, 2010).

O fogo é um fator antigo e comum no cerrado (Coutinho, 1981), podendo este ter origem natural ou antrópica. Embora o cerrado seja um ecossistema adaptado ao fogo, regimes de queima para pastagens (queimadas frequentes para estimular novo

crescimento) tem resultado em grandes problemas como empobrecimento do solo e erosão (Klink e Machado, 2005).

De um modo geral, o fogo afeta direta ou indiretamente os organismos. Os efeitos diretos do fogo podem levar à morte ou injúria dos organismos, enquanto que os indiretos geralmente envolvem mudanças de longa duração no ambiente impactando a vida dos organismos após a ocorrência do fogo. Esses efeitos indiretos podem envolver o habitat, suprimento de alimentos, competição e outras mudanças mais sutis que afetam o re-estabelecimento e sucessão das plantas e animais após o fogo (Busse e De Bano, 2005).

O regime de queima influencia a dinâmica populacional das plantas (Hoffmann, 1999) e a estrutura da comunidade do cerrado (Moreira, 2000), sendo um dos principais fatores que alteram a estrutura e a composição de espécies de uma comunidade vegetal (Gill, 1975). Na estação seca, as gramíneas, em sua maioria, estão inativas e a maior parte da biomassa aérea do cerrado está seca, favorecendo a ocorrência de incêndios (Klink e Solbring, 1996). A ocorrência do fogo pode ampliar o efeito da seca, pois a remoção da biomassa aérea permite uma maior incidência da radiação solar, o que diminui a disponibilidade de água nas camadas superficiais do solo (Medina e Silva, 1991).

As queimadas não possuem somente efeitos negativos, podendo estimular ou facilitar diversas etapas do ciclo de vida de muitas espécies herbáceas. Segundo Coutinho (1976), as queimadas promovem a floração em numerosas espécies do estrato herbáceo-arbustivo. Embora a vegetação lenhosa do cerrado apresente características adaptativas ao fogo, tais como cortiça grossa das árvores, arbustos que agem como isolante térmico e a rápida rebrota poucos dias após a queima, as queimadas durante a

estação seca podem resultar em mudanças significativas na estrutura e composição florística da vegetação (Coutinho, 1990).

De um modo geral, o fogo é letal para os microrganismos de forma que mudanças no tamanho da população microbiana são comuns após esse evento. Entretanto, as respostas microbianas são variáveis, ou até mesmo imprevisíveis, dependendo das condições do local, intensidade/severidade do fogo (Busse e De Bano, 2005).

Existem poucos trabalhos que avaliaram o efeito do fogo em comunidades microbianas do cerrado. Dentre eles, Nardoto e Bustamante (2003) estudaram o efeito do fogo sobre as taxas de mineralização líquida de nitrogênio e biomassa microbiana do solo em áreas de cerrado *sensu strictu*. Nesse estudo, compararam uma área queimada e outra não queimada, sendo que ambas apresentaram o mesmo padrão de mineralização/imobilização. Entretanto, a quantidade de nitrogênio inorgânico ciclado anualmente foi 14.7 Kg ha⁻¹ por ano na área não queimada, enquanto que na queimada foi de apenas 3.8 Kg ha⁻¹, mostrando indiretamente que ocorrem efeitos negativos do fogo nessas comunidades.

Neste contexto, o presente trabalho visou analisar os efeitos do fogo sobre a diversidade de protozoários de um solo de cerrado. É importante ressaltar que, quando realizado o levantamento bibliográfico, não foram encontrados trabalhos que relatassem esses efeitos para essa comunidade.

2. Objetivos

2.1 Avaliar a composição e a densidade de protozoários em solos de cerrado;

2.2 Analisar os efeitos qualitativos e quantitativos do fogo sobre a comunidade de protozoários de solo de cerrado, ao longo do tempo (a curto e médio prazo) após exposição ao fogo;

2.3 Avaliar a possibilidade de obtenção de espécies de protozoários que possam ser utilizadas como indicadoras de queimada como um impacto ambiental em solos de cerrado.

3. Metodologia

3.1. Local de coleta

O estudo foi realizado em uma reserva legal de Cerrado localizada na área urbana do município de São Carlos. Com área aproximada de 124,8 ha, a reserva está localizada no *campus* da UFSCar (Figura 1; Figura 2). Os tipos de solo predominantes na região são latossolo vermelho-amarelo álico e latossolo vermelho-amarelo distrófico, caracterizados por textura arenosa e grande profundidade. A altitude varia entre 815 e 895 m e o clima é tropical com verão úmido e inverno seco, ou seja, quente com estação seca definida, e com mínimo pluviométrico de abril a setembro. A vegetação da área apresenta certa heterogeneidade, incluindo áreas de cerrado campo limpo e mata galeria, com predomínio de cerrado *sensu strictu* (vegetação característica do cerrado, composta por exemplares arbustivo-arbóreos, de caules e galhos grossos e retorcidos, distribuídos de forma ligeiramente esparsa, intercalados por uma cobertura de ervas, gramíneas e espécies semi-arbustivas). Algumas espécies de plantas frequentes nessa área são *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg (Fabaceae), *Kielmeyera coriacea* (Spr) Mart. (Clusiaceae) e *Miconia albicans* (sw.) triana (Melastomataceae), entre outras.

As coletas foram realizadas em duas áreas amostrais diferentes (Figura 3), sendo que uma delas foi o controle (Figura 4), o qual permaneceu sem alteração, enquanto que na segunda área (Figura 5) ocorreu queimada. Nessas duas áreas, foram realizadas 16 coletas entre os meses de agosto de 2011 à agosto de 2012. A primeira coleta foi no dia seguinte a queimada, menos de 24 horas após a ocorrência do incêndio. Na sequência foram realizadas cinco coletas com intervalo semanal, três com intervalo de 15 dias, três com intervalo de 30 dias, três com intervalo de 60 dias, e a última coleta com intervalo de 30 dias em relação à coleta anterior completando desta forma um ano.

3.2 Coleta e Análise do solo

As coordenadas das áreas em que foram realizadas as coletas são: controle (21°58'04,06''S; 47°53'02,96''O), e queimada (21°58'02,33''S; 47°53'05,36''O).

As amostras foram colhidas apenas nos cinco primeiros centímetros por meio de uma pá (Figura 6), pois o fogo tem efeito maior nesta faixa (Coutinho, 1978b). Segundo Coutinho (1978b) mesmo em temperaturas superficiais de solo de 65°C a 75°C durante a passagem da chama frontal em vegetação de cerrado, não há aumento significativo na temperatura do solo em profundidades superiores a 1 cm. Segundo Araujo *et al.* (2003) foi observada uma imediata redução na atividade microbiana após a queima controlada em três profundidades investigadas (0 – 5 cm, 5,1 – 15 cm e de 15,1 – 20 cm), tendo sido mais acentuada nas camadas superficiais. Além disso, sabe-se pela literatura, (Bamforth, 1976; Foissner e Adams, 1980 apud Ingham, 1994), que as densidades de protozoários diminuem com a profundidade. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos com capacidade para 500g de solo devidamente identificados com as siglas representativas (C=Controle, Q=Queimado) dos locais de coleta e as datas (Figura 6)

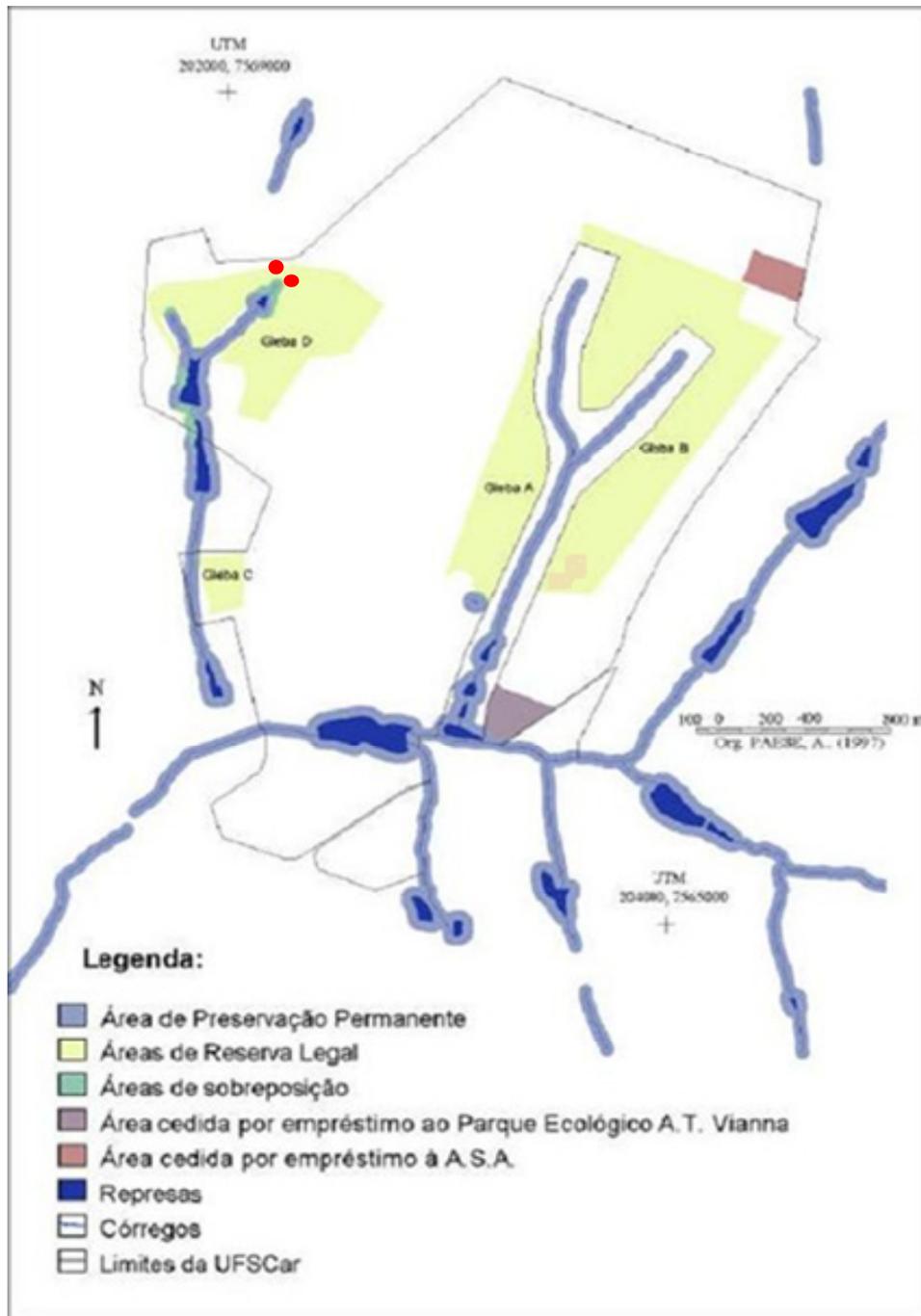


Figura 1: Mapa esquemático das diferentes divisões da área do Cerrado, localizado na Universidade Federal de São Carlos; São Carlos-SP. Os pontos em vermelho evidenciam os locais de coleta (Fonte: <http://cerrado.dodonov.net/index.html>).



Figura 2: Vista aérea do Cerrado, localizado na Universidade Federal de São Carlos; São Carlos-SP, indicando através do círculo vermelho a região de coleta (Fonte: GoogleEarth).



Figura 3: Vista aérea do Cerrado, localizado na Universidade Federal de São Carlos; São Carlos-SP, evidenciando por meio de pontos vermelhos as regiões de coleta (ponto 1 região Queimada; e ponto 2 região Controle), imagem aproximada. (Fonte: GoogleEarth).



Figura 4: Imagem da região queimada, Cerrado, localizado na Universidade Federal de São Carlos; São Carlos-SP. Coordenadas (21°58'02,33''S; 47°53'05,36''O).



Figura 5: Imagem da região controle, Cerrado, localizado na Universidade Federal de São Carlos; São Carlos-SP. Coordenadas (21°58'04,06''S; 47°53'02,96''O).



Figura 6: Material utilizado nas coletas, saco plástico com capacidade para 500 gramas de solo devidamente etiquetado e pá para coleta do material.

3.2.1 Dados Climatológicos

Os dados de temperatura, umidade, velocidade do vento, radiação solar, evapotranspiração (Eto) e chuva foram obtidos da Estação da Embrapa Pecuária Sudeste de São Carlos – SP (Embrapa, 2012), pelo site: <<http://www.cppse.embrapa.br/>>. Essas variáveis climáticas foram acompanhadas durante todo o período de coletas, pois a chuva, temperatura e vento podem influenciar na distribuição dos protozoários. A chuva, assim como o vento, podem trazer cistos de protozoários do ar ou mesmo da parte não queimada para a parte queimada em estudo. Com as variações da temperatura e da umidade pode ocorrer o encistamento/desencistamento ou até a morte de alguns protozoários.

3.2.2 Análise granulométrica do solo

A análise granulométrica do solo foi realizada segundo Suguio (1979). A amostra foi seca à temperatura ambiente. Posteriormente foi transferida uma alíquota para um frasco devidamente tarado. Feita a extração da matéria orgânica com Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) em banho-maria, a amostra foi limpa com H_2O destilada com uma seringa por 3 a 4 vezes. Em seguida foi levada à estufa ($105^\circ C$) por 24 h. A diferença apresentada após a pesagem desta representou a quantidade de matéria orgânica nela existente. A separação entre a fração grosseira (areias) e a fração fina (silte + argila) foi realizada utilizando-se defloculante (NaOH 1N), agitando no homogeneizador 10 a 15 minutos. A solução foi passada pela peneira de 0,053 mm de poro. O material retido, ou seja, a fração grosseira foi colocada em estufa por mais 24 hs. Depois de seca, a fração grosseira foi passada por peneiras adequadas, e pesada em frascos. O que passou pela peneira, fração fina foi colocada em proveta de 1000 mL e agitada segundo a Lei de Stokes, com um bastão de vidro, obtendo-se dessa maneira a porcentagem de silte e argila.

3.2.3 Análise qualitativa da diversidade críptica de protozoários (Método do “Non-Flooded Petri Dish”)

Diversidade críptica é aquela presente na forma de cistos. O método utilizado para essa análise foi o “Non-Flooded Petri Dish Method” (Método de placa de Petri umedecida, Figura 7) segundo Foissner (1987; 1992).

Após as coletas, amostras foram levadas ao Laboratório de Ecologia de Microrganismos Aquáticos da UFSCar, para preparação da técnica:

1. As amostras de solo foram homogeneizadas com o auxílio de uma bandeja, de modo a garantir que não fosse analisado apenas o solo contido na porção mais superior ou mais inferior do quadrante de coleta.
2. Em uma placa de Petri estéril de 12 cm de diâmetro foram colocados 30 g do solo homogeneizado. Para cada amostra foram preparadas três placas.
3. Nas placas foi adicionado em torno de 20 a 25 mL de água destilada até o solo ficar bem úmido, porém não saturado. Esse volume de água foi estimado para que não se encharcasse o solo. O pH do solo foi medido com fita indicadora antes e depois de adicionar a água.
4. Foi colocado um clipe na borda da placa antes de colocar a tampa da mesma, para permitir a circulação de ar na amostra, sem que a mesma se contamine com cistos provenientes do ar. As placas foram mantidas em repouso sobre a bancada durante 12 horas, tempo mínimo para a hidratação do solo.
5. Após 12 horas, as placas foram inclinadas a 45° e o solo foi levemente pressionado com os dedos, a fim de que a água se acumulasse na parte inferior da placa.
6. Lâminas foram montadas com a água drenada do solo de cada placa de Petri e analisadas em microscópio óptico, com o intuito de se identificar os protozoários (análise qualitativa) na amostra.
7. As placas foram hidratadas duas vezes por semana, foram colocados aproximadamente 3 mL de água destilada a cada reposição para evitar o ressecamento.
8. A análise microscópica dos protozoários na água drenada das placas foi feita novamente nos dias 2, 6, 12, 20 e 30 após a montagem do experimento.

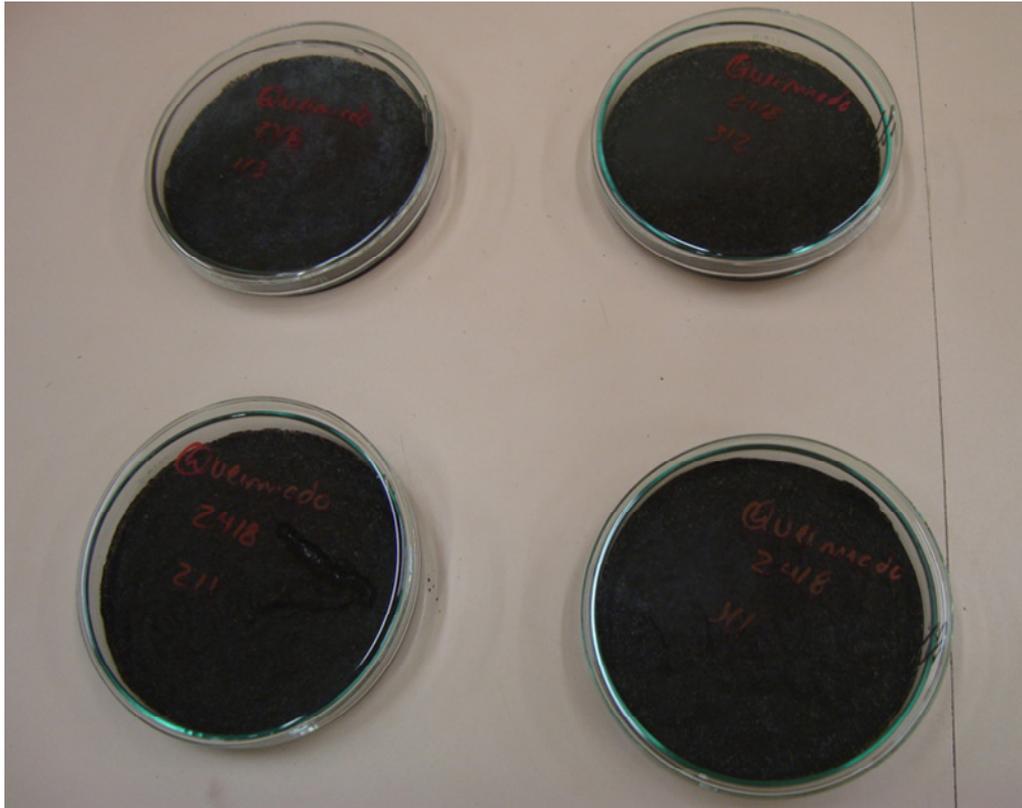


Figura 7: Experimento “Placa de Petri Umedecida”, placas contendo solo da região Queimada.

3.2.4 Análise qualitativa e quantitativa dos protozoários ativos

O número de protozoários ativos nas amostras de solo foi estimado por contagem direta adaptada de Lüftenegger (1988) e de Finlay *et al.* (1979). Três subamostras de 0,1 g de solo foram pesadas e colocadas em três tubos de 5 mL e suspensas em 1 mL de extrato de solo (300 g de solo em 1000 mL de água destilada fervido por 10 minutos, decantado, filtrado e autoclavado, Figura 8), segundo Aescht e Foissner (1992). O sobrenadante foi analisado, 30 minutos após agitação leve do tubo, no microscópio óptico de campo claro com aumento de 40x. Para essa análise foi feita uma série de gotas de 5 μ l de volume, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, em lâmina de vidro. No microscópio óptico utilizando aumento de 40x consegue-se observar a maior parte de cada gota dentro do campo de visão. As gotas foram obtidas de forma aleatória. O número de protozoários ciliados observados e identificados em cada gota foi anotado

até atingir 150 ciliados ou 150 gotas, segundo Finlay *et al.* (1979), pois uma curva que descreve a relação entre o número de espécies encontradas e o número total de indivíduos contados começa a estabilizar-se como a análoga “curva espécie-área”. O cálculo final de número de indivíduos por volume líquido analisado foi transformado para grama de peso seco.

A contagem de protozoários foi feita “in vivo” realizada em gota espessa, e a escolha do tamanho da gota que foi de 5 μm foi para evitar sobreposição tendo em vista que é possível observar toda a gota no aumento de 40X em microscópio óptico de campo claro. Ao logo da contagem dos protozoários ativos foi utilizado lugol fraco para facilitar a classificação das morfoespécies nos grupos taxonômicos. A classificação das morfoespécies nos grupos taxonômicos foi realizada de acordo com Foissner e Berger (1996).



Figura 8: Experimento – Contagem Direta, tubos, em tréplica, contendo solo das regiões analisadas: Controle e Queimada.

3.2.5 Identificação taxonômica dos protozoários ciliados – Técnica do Protargol

Para a identificação taxonômica dos protozoários ciliados foi utilizada a técnica de impregnação pela prata-protargol segundo Dieckman (1995). Inicialmente foi realizada triagem dos organismos a partir das culturas e fixação dos mesmos em Bouin aquoso em uma saleira. Durante as triagens os ciliados foram transferidos para gotas de água destilada (x gotas) para lavagem da amostra e posteriormente transferidos para saleira, a triagem foi feita com a utilização de capilares de vidro. Após triagem dos ciliados, de amostras de solo das áreas Controle e Queimado, estes foram fixados em Bouin aquoso por 30 – 60 minutos. O fixador foi retirado através de lavagens com água destilada (x vezes). Optou-se por não centrifugar a amostra para evitar perda de ciliados pequenos. Posteriormente foi adicionada 10 µL de albumina glicerinada para 1 mL de material e misturada com os protozoários triados na saleira, após adição aguardou-se no mínimo 20 - 40 minutos.

As células foram transferidas e distribuídas por toda a extensão da lâmina. O líquido adicional pode ser removido com uma pipeta enquanto a lâmina é inclinada, ou pode-se esperar a lâmina secar sem remover o líquido adicional. As lâminas secaram, em temperatura ambiente, em uma caixa de papelão por 48 horas no mínimo.

1) Após a secagem das lâminas, estas foram colocadas em um borel com álcool à 100% de 10 a 20 minutos. Posteriormente transferidas para o álcool 70% por 10 minutos e depois para o álcool 30% por 10 minutos. Estes passos foram realizados para reidratação das lâminas.

2) Do álcool 30%, as lâminas foram transferidas para um borel com água destilada três vezes por 10 minutos cada.

3) Depois da terceira lavagem em água destilada, as lâminas foram para uma solução de permanganato de potássio à 0.2%, a fim de que as células fossem

clarificadas. Depois de 100 a 150 segundos (1 minuto e 20 segundos à 2 minutos e meio) lavou-se brevemente as lâminas, três vezes em água destilada.

4) As lâminas foram colocadas em uma solução de ácido oxálico à 2,5%, e deixadas nessa solução durante 180 segundos (3 minutos).

5) Estas foram enxaguadas em água destilada quatro vezes por 5 minutos cada.

6) As lâminas foram colocadas em uma solução pré-aquecida de Protargol à 0.2% e levadas ao banho-maria de 2 a 3 horas à 60° C.

7) O borel foi retirado do banho. As lâminas foram removidas e mergulhadas em uma solução de hidroquinona por 5-15 minutos, foi realizado o monitoramento de cada lâmina.

8) As lâminas foram enxaguadas cinco vezes em água destilada por 3 minutos cada.

9) Estas foram passadas por uma solução de cloreto de ouro à 0.5% durante 10 segundos e lavadas em água destilada por mais alguns segundos.

10) Rapidamente estas foram transferidas da água destilada para uma solução de ácido oxálico à 3% de 30 a 180 segundos.

11) As lâminas foram retiradas da solução de ácido oxálico e foram enxaguadas completamente, lavando-as em água destilada quatro vezes por 5 minutos cada.

12) Depois da lavagem, as lâminas foram colocadas em uma solução de tiosulfato de sódio à 2% por 3 segundos no máximo e imediatamente transferidas para água destilada.

13) Estas foram lavadas de três a quatro vezes por 5 minutos cada em água destilada.

14) Para a montagem de lâminas permanentes, estas foram colocadas por 10 minutos no álcool 30%, 70% e 2 vezes no álcool 100%. As lâminas foram cobertas com uma lamínula após a adição de duas gotas de entellan.

4. Forma de Análise dos Dados

A análise comparativa entre os dois locais coletados, com relação à diversidade críptica de protozoários, foi realizada pelo índice de similaridade de Jaccard utilizando as 32 amostras. Este índice atribui uma medida de similaridade qualitativa às amostras, já que avaliou apenas a ausência e presença de espécies amostradas (Magurran, 1988). A similaridade foi apresentada na forma de matriz.

O coeficiente de Jaccard é expresso a partir da fórmula abaixo (Townsend *et al.*, 2006):

$$S_j = \frac{a}{a+b+c}$$

S_j = coeficiente de similaridade de Jaccard

Onde:

a = as duas espécies ocorrem.

b = somente primeira espécie ocorre.

c = somente a segunda espécie ocorre.

Também foram utilizados dois outros métodos de análise, índice de Shannon e similaridade de Bray-Curtis, que foram aplicados nos dados de protozoários ativos.

A diversidade de protozoários ativos em cada região coletada, para as 32 amostras, foi calculada pelo índice de diversidade de Shannon (H), pois este valoriza a abundância proporcional das espécies enfatizando a riqueza e homogeneidade. O índice de diversidade de Shannon-Wiener considera pesos iguais para espécies raras e abundantes (Magurran, 1988).

O índice de diversidade de Shannon é expresso a partir da fórmula abaixo (Townsend *et al.*, 2006):

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

Em que:

H' = índice de Shannon-Wiener.

n_i = número de indivíduos amostrados em cada espécie.

p_i = abundância relativa de cada espécie. Calculada pela proporção dos indivíduos de uma espécie pelo número total dos indivíduos. $p_i = n_i/N$.

N = número total de indivíduos amostrados.

S = número total de espécies amostradas.

\ln = logaritmo de base neperiana.

Na análise do coeficiente de similaridade de Bray-Curtis comparando a riqueza e abundância dos protozoários ativos, para as 32 amostras, dos diferentes locais de coleta optou-se pelo valor de 60% de similaridade para delimitar os agrupamentos para a construção do dendrograma. Estes foram calculados no programa Past (Hammer et al. 2001).

Outra análise utilizada foi a Análise de Correspondência Canônica (CCA) para avaliar a associação entre as variáveis ambientais e os dados biológicos (protozoários ativos), esta foi calculada no programa Canoco (Ter Braak, 1986).

5. Resultados

Os valores médios dos dados das variáveis climatológicas obtidas ao longo das coletas estão apresentados na Tabela 1. Foi realizada a média de 10 dias anteriores, incluindo o dia da coleta, pois provavelmente eventos ocorridos antes da coleta poderiam estar influenciando a comunidade de protozoários

Tabela 1: Dados climatológicos. Média de 10 dias anteriores, incluindo o dia da coleta (Temp. Média=Temperatura Média; Umid. Rel. Média=Umidade Relativa Média; Chuva; Vel. Média do Vento=Velocidade Média do Vento; Rad. Solar=Radiação Solar; Eto=Evapotranspiração). Os dados de chuva e evapotranspiração foram a somatória dos dias considerados para cada amostra.

Dia	Temp. Média (Cº)	Umid.Rel. Média (%)	Chuva (mm)	Vel. Média do Vento (m/s)	Rad. Solar (MJ/m ²)	Eto (mm)	
Agosto/2011	1	17.2	70.3	11.0	1.02	13.80	24.0
	2	20.1	60.0	0.0	1.1	17.24	31.66
	3	19.4	63.5	5.8	1.26	14.75	26.75
	4	20.6	64.69	15.0	1.62	15.53	29.0
Setembro/2011	5	20.3	64.01	15.0	1.12	15.96	29.53
	6	19.1	53.37	13.8	1.33	19.18	34.22
	7	20.9	56.89	3.2	1.35	17.79	32.73
	8	21.0	56.57	1.2	1.42	20.22	37.26
Outubro/2011	9	21.81	71.69	35.8	1.18	18.93	35.73
Novembro/2011	10	19.85	66.28	2.0	1.42	22.37	40.11
Dezembro/2011	11	21.78	78.89	66.6	1.17	23.07	43.56
Janeiro/2012	12	21.59	83.37	64.8	0.96	18.45	35.15
Março/2012	13	23.23	79.27	37.6	0.89	19.62	38.6
Maio/2012	14	17.6	78.72	79.2	1.07	13.89	24.03
Julho/2012	15	17.44	78.1	0.6	0.65	14.24	25.43
Agosto/2012	16	18.02	69.71	0.0	0.81	16.37	29.34

Os valores de pH do solo obtidos no decorrer da montagem dos experimentos, estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Valores de pH obtidos antes e depois da adição de água nas amostras “Controle” e “Queimado” em todas as coletas.

Coletas		Controle		Queimado	
		pH sem água	pH com água	pH sem água	pH com água
agosto/2011	1	5	4,5	4,5	7
	2	5	4,5	4,5	7
	3	5	4,5	4,5	7
	4	5	4,5	4,5	7
	5	5	4,5	5	7
setembro/2011	6	5	4,5	5	6
	7	5	4,5	5	6
	8	5	4,5	5	6
outubro/2011	9	4,5	4	4,5	4,5
novembro/2011	10	4,5	4	4,5	4,5
dezembro/2011	11	5	4,5	5	4,5
janeiro/2012	12	5	4,5	5	4,5
março/2012	13	4,5	4	4,5	5,5
maio/2012	14	4,5	4	5	4,5
julho/2012	15	5	4	5	4,5
agosto/2012	16	4,5	4	4,5	4,5

Por meio da análise de correspondência canônica (CCA), Figura 9, aplicada nos dados apresentados nas Tabelas 1 e 2, foi obtido que 74,8% da variação na abundância das morfo-espécies ativas podem ser explicadas pelas variáveis climatológicas e pH do solo, sendo que o primeiro eixo explicou 51,8% da variação dos dados e o segundo eixo explicou 23% da variação dos dados. Segundo o Teste de Monte Carlo aplicado para essa análise, 3 variáveis apresentaram valor de p significativo, ou seja, menor que 0,05. Estas variáveis são: Temperatura Média $p= 0,02$, Umidade Relativa Média do ar $p= 0,009$ e Evapotranspiração $p= 0,006$.

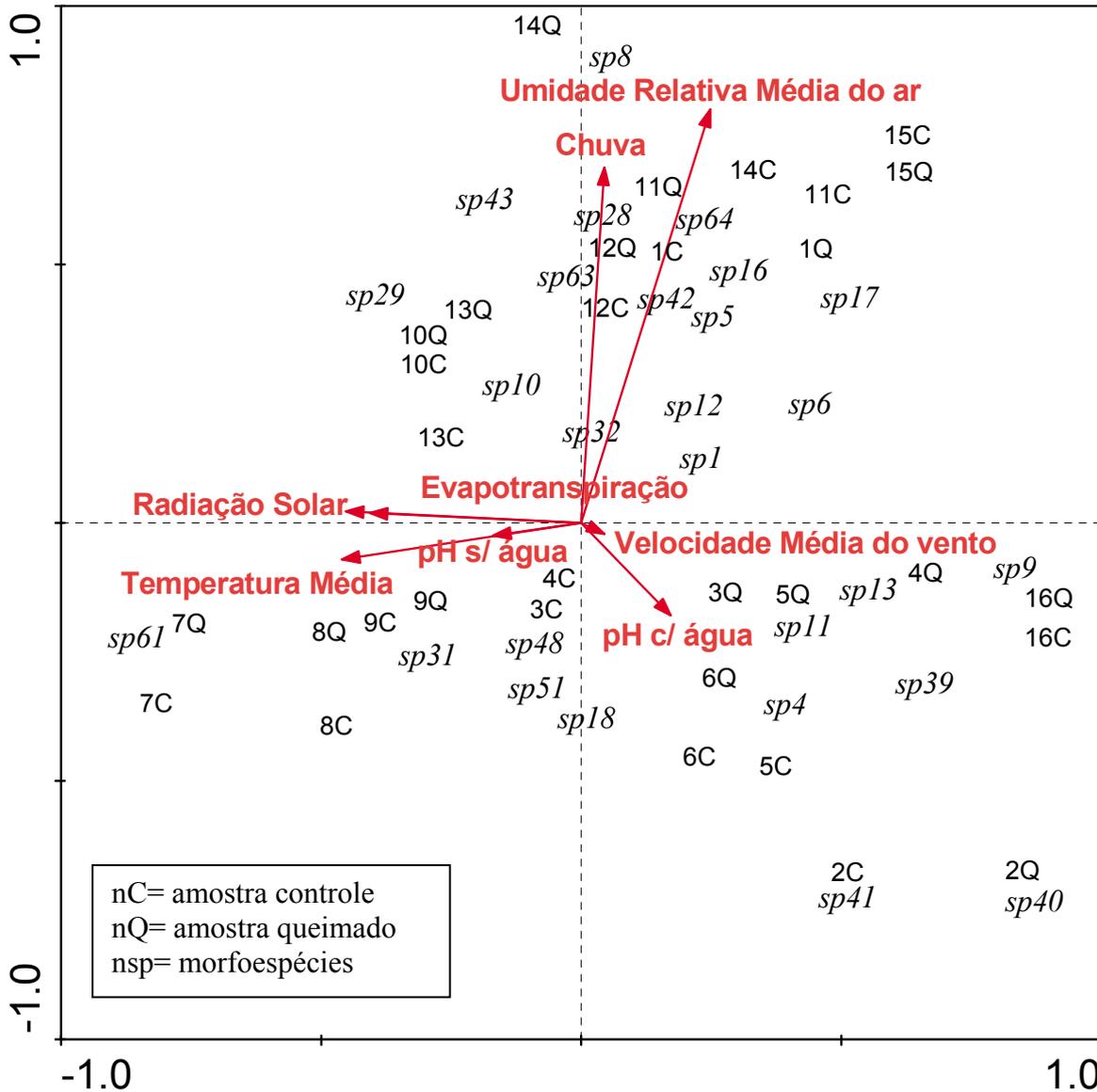


Figura 9: Diagrama de ordenação produzido pela análise de correspondência canônica (CCA) da abundância de 32 morfoespécies ativas em 32 amostras coletadas (sendo 16 amostras da região controle; e 16 amostras da região queimada). O diagrama mostra a distribuição das morfoespécies, das amostras coletadas e das variáveis ambientais. As linhas indicam a grandeza e o sentido do aumento das variáveis ambientais.

A Tabela 3 apresenta os valores obtidos da análise granulométrica: quantidade (g) de matéria orgânica e matéria inorgânica; e porcentagem de matéria orgânica, areia grossa; areia média, areia fina, silte e argila.

Tabela 3: Valores (g) de matéria orgânica e inorgânica; e porcentagem de matéria orgânica, areia grossa; areia média, areia fina, silte e argila nas amostras de solo das duas regiões estudadas: queimada (Q) e controle (C).

Controle								
No. Amostra	M.O. (g)	M.I. (g)	%M.O.	Areia Grossa (%)	Areia média (%)	Areia Fina (%)	Silte (%)	Argila (%)
1C	0.47	22.73	2.03	0.42	31.38	32.31	6.33	29.56
2C	1.05	21.10	4.74	0.92	35.91	26.34	4.60	32.23
3C	1.22	20.52	6.12	0.76	38.52	22.10	6.01	30.02
4C	1.45	20.75	6.53	0.73	42.91	22.50	4.84	29.03
5C	0.54	24.26	2.17	0.77	41.57	22.15	6.13	30.66
6C	0.78	22.52	3.34	0.57	39.56	22.93	6.60	33.01
7C	0.85	19.15	4.25	0.77	41.75	21.34	2.58	33.59
8C	1.24	21.26	5.51	0.65	38.63	23.67	2.32	32.61
9C	0.55	21.85	2.45	0.68	40.49	22.04	4.53	34.01
10C	1.65	24.25	6.37	0.61	38.97	23.59	6.13	30.67
11C	1.37	24.67	6.55	0.72	40.16	22.43	6.03	32.16
12C	2.09	19.51	9.67	0.91	42.87	19.93	5.07	30.44
13C	1.74	19.96	8.00	0.94	42.95	19.94	7.44	27.28
14C	2.24	21.66	9.37	1.05	40.94	20.49	4.57	34.30
15C	2.08	19.67	9.23	0.93	41.43	19.91	4.65	30.20
16C	1.76	20.31	8.31	1.03	40.32	20.13	6.58	32.01
Queimado								
No. Amostra	M.O. (g)	M.I. (g)	%M.O.	Areia Grossa (%)	Areia média (%)	Areia Fina (%)	Silte (%)	Argila (%)
1Q	0.55	19.45	2.75	1.62	46.59	26.53	10.11	15.16
2Q	0.73	19.77	3.56	3.66	53.54	20.22	10.04	12.54
3Q	0.90	24.80	3.50	0.32	38.01	29.53	12.05	20.09
4Q	0.60	21.60	2.70	0.92	44.95	28.53	18.34	11.46
5Q	0.57	21.93	2.53	1.85	54.27	28.37	6.77	33.89
6Q	0.60	22.50	2.59	1.58	43.65	21.49	15.41	19.82
7Q	0.60	20.20	2.88	1.22	43.52	24.31	9.80	22.05
8Q	0.50	24.60	2.0	0.44	36.29	28.22	10.08	24.19
9Q	0.65	23.05	2.74	0.64	40.86	27.31	8.60	23.65
10Q	0.72	23.78	2.93	0.58	37.15	28.44	4.17	31.27
11Q	0.86	23.94	3.46	0.66	37.44	26.30	4.14	33.14
12Q	0.71	23.19	2.97	0.98	44.71	21.29	6.41	23.51
13Q	0.52	21.28	2.38	1.86	45.53	27.37	9.31	13.96
14Q	2.10	21.60	8.86	0.91	31.69	24.22	2.29	32.11
15Q	0.83	21.41	2.46	0.92	42.67	25.32	6.31	20.14
16Q	0.92	21.87	2.87	1.46	43.23	23.67	6.63	23.52

A Figura 10 apresenta a análise de correspondência canônica utilizando os dados da Tabela 3. Pela análise, 61,3% da variação na abundância de protozoários ativos pode ser explicada pelos dados apresentados na Tabela 3. O primeiro eixo explicou 39,1% da variação dos dados e o segundo 22,2%. Segundo o teste de Monte Carlo tem-se que 3 variáveis apresentaram p significativo; estas foram: areia grossa $p=0,02$, areia média $p=0,05$ e argila $p=0,03$.

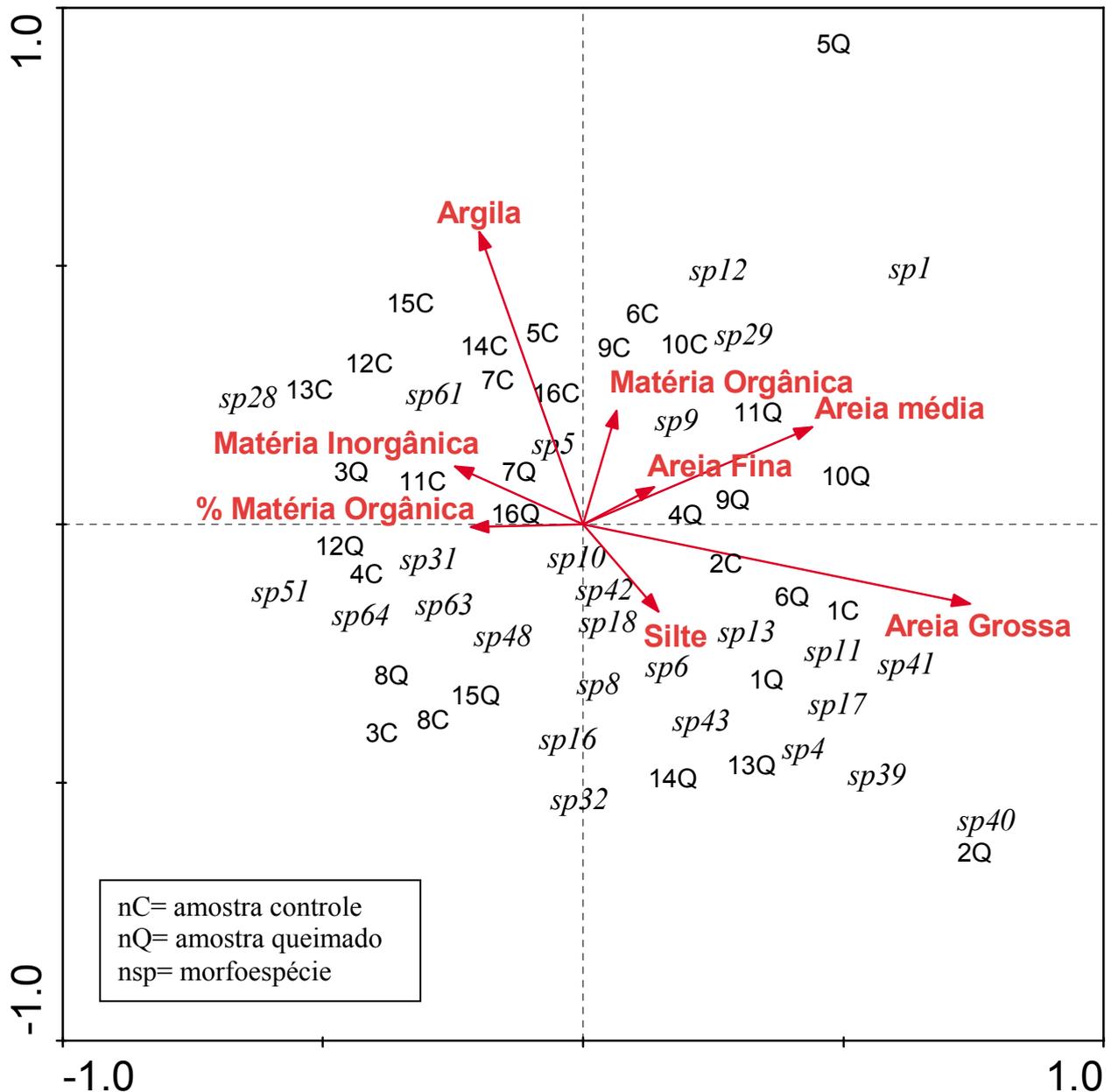


Figura 10: Diagrama de ordenação produzido pela análise de correspondência canônica (CCA) da abundância de 32 morfoespécies ativas em 32 amostras coletadas (sendo 16 amostras da região controle; e 16 amostras da região queimada). O diagrama mostra a distribuição das morfoespécies, das amostras coletadas e das variáveis ambientais (matéria orgânica, matéria inorgânica; e porcentagem de matéria orgânica, areia grossa, areia média, areia fina, silte e argila). As linhas indicam a grandeza e o sentido do aumento das variáveis ambientais.

O solo do cerrado apresentou 102 morfo-espécies obtidas pelo método de placa de Petri umedecida, que evidencia a diversidade críptica, ou seja, protozoários inativos. Essas morfo-espécies pertencem a 12 grupos taxonômicos, sendo estes: Hypotrichia (33 morfoespécies), Hymenostomata (17 morfoespécies), Pleurostomatida (11 morfoespécies), Heterotrichida (9 morfoespécies), Gymnostomatida (8 morfoespécies),

Oligotrichida (7 morfoespécies), Cyrtophorida (7 morfoespécies), Colpodea (4 morfoespécies), Prostomatida (3 morfoespécies), Peritrichia (1 morfoespécie), Ameba (1 morfoespécie) e Tecameba (1 morfoespécie). A Figura 11 apresenta a distribuição percentual do número de morfoespécies obtidas de condições de cultivo (placa de petri umedecida) nos diferentes grupos taxonômicos de protozoários nas duas regiões estudadas. Durante as análises foi possível observar morfoespécies dos grupos: amebas, tecamebas e ciliados. Os grupos flagelados e heliozoários não possuem representantes neste estudo, pois não foi possível observar morfoespécies destes devido ao caráter das amostras, muita sujeira e pequenos grãos presentes nas amostras tornou muito difícil a observação de representantes deste dois grupos.

Observando a Figura 11 tem-se que a região Controle apresentou 12 grupos taxonômicos, porém a região Queimada apresentou 10 grupos. Na região Queimada não foi observado nenhum representante do grupo Ameba e nem do grupo Prostomatida.

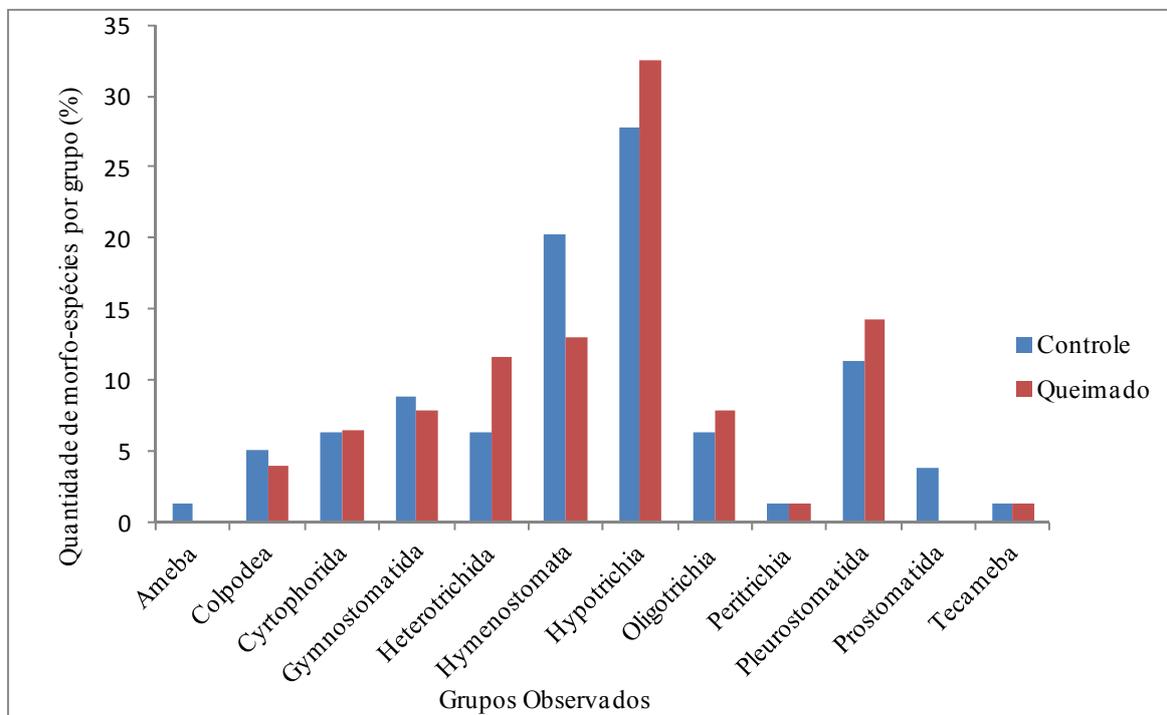


Figura 11: Distribuição percentual das 102 morfo-espécies observadas nos diferentes grupos taxonômicos de protozoários em cada região.

A Tabela 4 mostra a presença e ausência da cada morfo-espécie em cada região. Foi possível observar que das 102 morfo-espécies 57 ocorreram nas duas regiões, 22 ocorreram somente na região controle e 23 ocorreram somente na queimada. Sendo assim, tem-se que 55,88% das morfoespécies estão presentes em ambas as áreas estudadas. A classificação taxonômica destas morfoespécies pode ser observada na tabela 5.

Tabela 4: Presença (X) e ausência (-) das morfoespécies nas duas regiões (Controle e Queimada).

Morfo-espécies	Controle	Queimado	Morfo-espécies	Controle	Queimado
sp1	x	x	sp26	x	-
sp2	x	-	sp27	x	x
sp3	x	x	sp28	x	x
sp4	x	x	sp29	x	x
sp5	x	x	sp30	x	x
sp6	x	x	sp31	x	x
sp7	-	x	sp32	x	x
sp8	x	x	sp33	x	x
sp9	x	x	sp34	-	x
sp10	x	x	sp35	x	x
sp11	x	x	sp36	-	x
sp12	x	x	sp37	x	-
sp13	x	x	sp38	x	-
sp14	x	x	sp39	x	x
sp15	x	-	sp40	x	x
sp16	x	x	sp41	x	x
sp17	x	x	sp42	x	x
sp18	x	x	sp43	x	x
sp19	-	x	sp44	x	-
sp20	x	-	sp45	x	-
sp21	-	x	sp46	x	-
sp22	x	-	sp47	x	x
sp23	x	-	sp48	x	x
sp24	-	x	sp49	x	x
sp25	-	x	sp50	-	x

Morfo- espécies	Controle	Queimado	Morfo- espécies	Controle	Queimado
sp51	-	x	sp77	-	x
sp52	x	x	sp78	x	x
sp53	x	x	sp79	x	x
sp54	x	x	sp80	-	x
sp55	x	x	sp81	-	x
sp56	-	x	sp82	x	-
sp57	x	x	sp83	x	-
sp58	x	x	sp84	x	x
sp59	-	x	sp85	x	x
sp60	-	x	sp86	x	x
sp61	x	x	sp87	x	x
sp62	x	-	sp88	x	-
sp63	x	x	sp89	-	x
sp64	x	x	sp90	x	x
sp65	x	-	sp91	x	-
sp66	x	x	sp92	-	x
sp67	x	-	sp93	-	x
sp68	x	-	sp94	-	x
sp69	x	-	sp95	x	-
sp70	x	x	sp96	x	x
sp71	-	x	sp97	x	x
sp72	x	x	sp98	x	x
sp73	-	x	sp99	x	x
sp74	-	x	sp100	x	x
sp75	x	x	sp101	x	-
sp76	x	x	sp102	-	x

A tabela 5 apresenta as morfoespécies obtidas classificadas em grupos taxonômicos.

Tabela 5: Morfoespécies obtidas classificadas em grupos taxonômicos.

Grupos	Morfoespécies obtidas
Hymenostomata	sp1, sp2, sp3, sp5, sp14, sp22, sp38, sp39, sp42, sp45, sp 58, sp66, sp67, sp82, sp83, sp84, sp102
Colpodea	sp4, sp31, sp32, sp101
Hypotrichia	sp6, sp7, sp8, sp9, sp10, sp11, sp12, sp13, sp23, sp24, sp25, sp34, sp36, sp40, sp41, sp43, sp44, sp46, sp47, sp48, sp49, sp55, sp56, sp59, sp61, sp62, sp71, sp72, sp91, sp92, sp93, sp94, sp97
Pleurostomatida	sp16, sp50, sp52, sp53, sp70, sp76, sp81, sp85, sp86, sp90, sp100
Heterotrichida	sp17, sp18, sp19, sp21, sp54, sp60, sp63, sp64, sp73
Gymnostomatida	sp20, sp28, sp29, sp30, sp57, sp65, sp80, sp98
Oligotrichida	sp15, sp33, sp51, sp75, sp78, sp89, sp96
Peritrichia	sp35
Cyrtophorida	sp37, sp74, sp77, sp79, sp87, sp95, sp99
Prostomatida	sp68, sp69, sp88
Ameba	sp26
Tecameba	sp27

Foi possível obter 32 morfoespécies de protozoários ativos, estas distribuídas em 9 grupos: Hypotrichia (12 morfoespécies), Heterotrichia (5 morfoespécies), Hymenostomata (4 morfoespécies), Colpodea (3 morfoespécies), Pleurostomatida (2 morfoespécies), Gymnostomatida (2 morfoespécies), Oligotrichida (2 morfoespécies), Tecameba (1 morfoespécie) e Cyrtophorida (1 morfoespécie). A Figura 12 apresenta a distribuição percentual do número de morfoespécies de protozoários ativos nos grupos taxonômicos nas duas regiões estudadas.

Dos 9 grupos taxonômicos registrados (Figura 12), 8 destes ocorrem na região Controle, sendo que apenas o grupo Cyrtophorida não tem representação na região controle. E na região Queimado também ocorrem 8 grupos, sendo que o grupo Tecameba não teve representação.

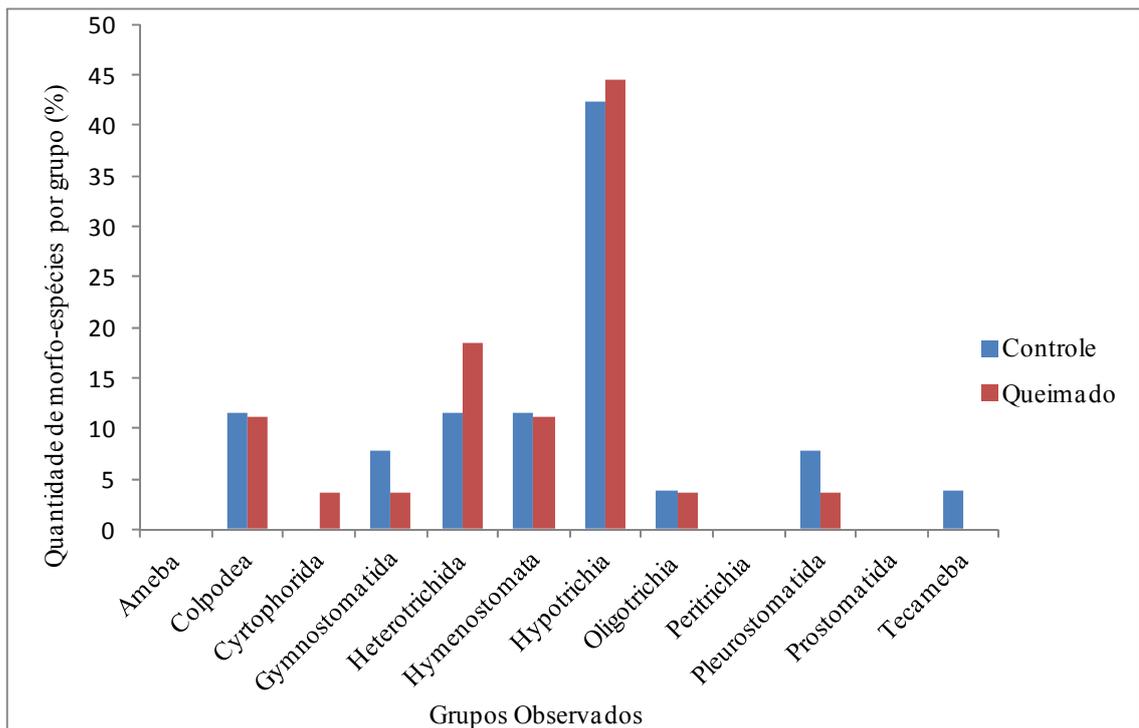


Figura 12: Distribuição percentual das 32 morfoespécies ativas nos grupos taxonômicos de protozoários nas duas regiões estudadas (Controle e Queimado).

A Figura 13 apresenta a abundância de protozoários ativos em cada grupo taxonômico. Foi observado que o grupo mais abundante foi Colpodea em ambas as regiões estudadas, sendo que o total de protozoários observados nas áreas controle e queimado foi de 51,81% e 50,64%, respectivamente.

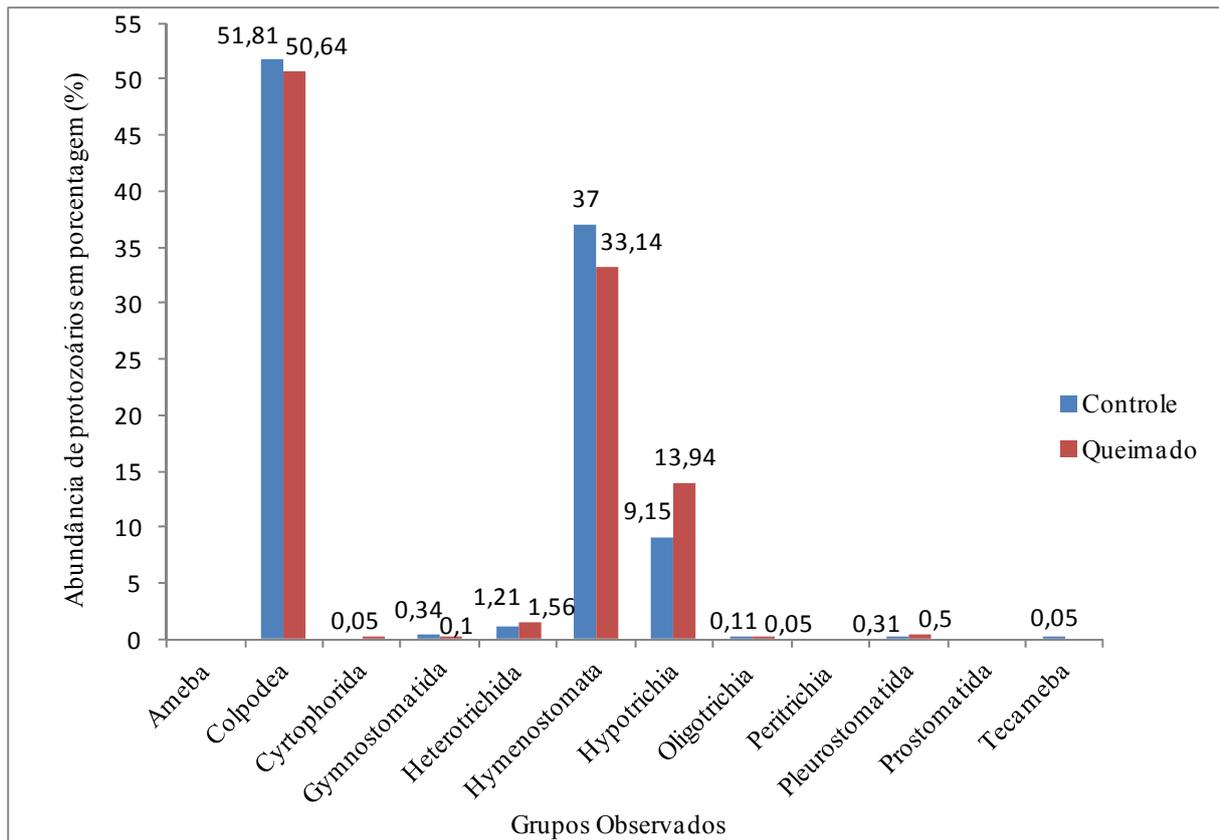


Figura 13: Abundância, em porcentagem, das 32 morfoespécies ativas nos grupos taxonômicos de protozoários na duas regiões estudadas (Controle e Queimado).

A Figura 14 apresenta a quantidade de indivíduos ativos por morfoespécie em ambas as regiões estudadas. Pode ser observado que as morfoespécies de maior abundância foram: sp31 (Colpodea) e sp1 (Hymenostomata) respectivamente, em ambas as regiões (controle e queimado).

Nas amostras da região Controle não foram observadas as morfoespécies: sp17, sp19, sp33, sp42, sp61 e sp79; já nas amostras da região Queimada não foram observadas as morfoespécies: sp27, sp28, sp39, sp48, sp51 e sp52. Sendo assim, em ambas as regiões foram observadas 26 morfoespécies.

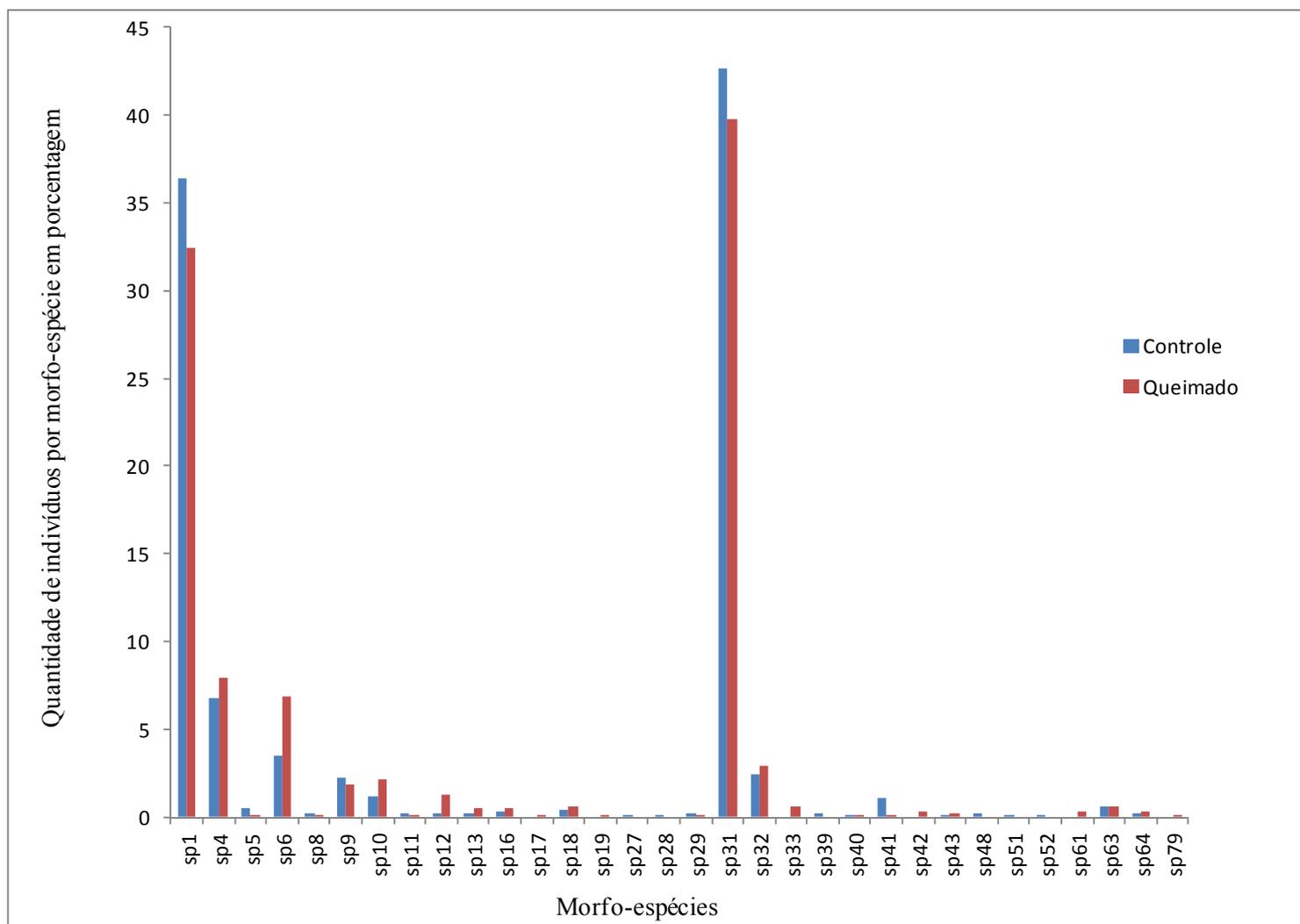


Figura 14: Quantidade em porcentagem de indivíduos ativos em porcentagem por morfoespécie, nas 32 amostras, em ambas as regiões estudadas (Controle e Queimado).

A análise comparativa entre as morfo-espécies obtidas pelos métodos de placa de Petri umedecida e pelo método de análise de protozoários ativos indica que 25,49% das morfo-espécies encontradas no primeiro método também foram observadas no segundo método em ambas as regiões estudadas.

O índice de Jaccard foi aplicado nas 32 amostras, utilizando as 102 morfo-espécies. O valor de similaridade de 0,45 foi utilizado para delimitar os agrupamentos. Foi observada a ocorrência de dois grandes agrupamentos (um grupo apresentou as amostras 2C, 3Q, 4C, 3C, 5C, 2Q, 4Q, 7Q, 8Q e 6Q; o outro grupo apresentou as

amostras 5Q, 8C, 7C, 9C, 9Q, 14C, 14Q, 15C, 15Q, 10C, 10Q e 16Q). Seis amostras não foram agrupadas (12Q, 11C, 12C, 13Q, 13C e 16C) e outros dois grupos com apenas duas amostras foram agrupadas (1Q e 1C para um grupo e 6C e 11Q para outro). Sendo as amostras 15Q e 15C foram as mais próximas, com valor de similaridade de 0,76, como mostra a Figura 15.

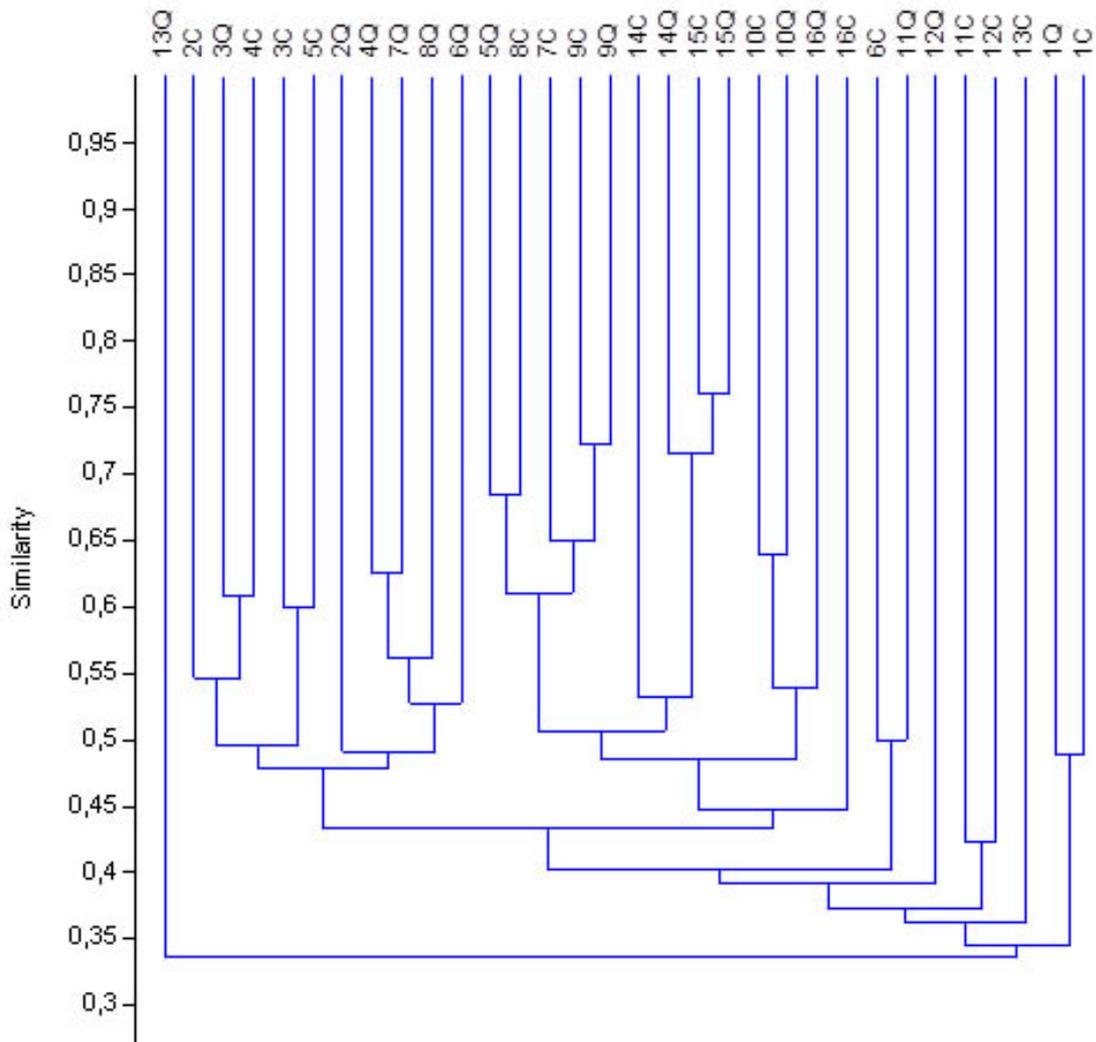


Figura 15: Dendrograma. Índice de Jaccard. A linha de corte utilizada para delimitar os agrupamentos foi o valor de similaridade de 0,45.

O coeficiente de similaridade de Bray-Curtis foi também aplicado para as 32 amostras, porém foram utilizados apenas os protozoários ativos neste índice. Considerando o valor de similaridade sendo de 0,60 para delimitar os agrupamentos, obtivemos um grupo grande que apresentou as amostras: 3Q, 7Q, 4C, 12C, 7C, 9Q, 9C,

6C, 12Q, 4Q, 10C, 11Q, 6Q e 10Q. Duas amostras ficaram sem se agrupar (13C e 16Q), 4 grupos com 3 amostras agrupadas em cada (13Q, 15C e 15Q para um grupo; 14C, 14Q e 16C para outro grupo; 5C, 1C e 1Q para outro grupo e 3C, 8C e 8Q para o último) e dois grupos com duas amostras agrupadas cada (2C e 1Q para um grupo; e 5Q e 11C para o outro). As amostras que apresentaram valor de similaridade mais alto (0,91) foram 8C e 8Q (Figura 16).

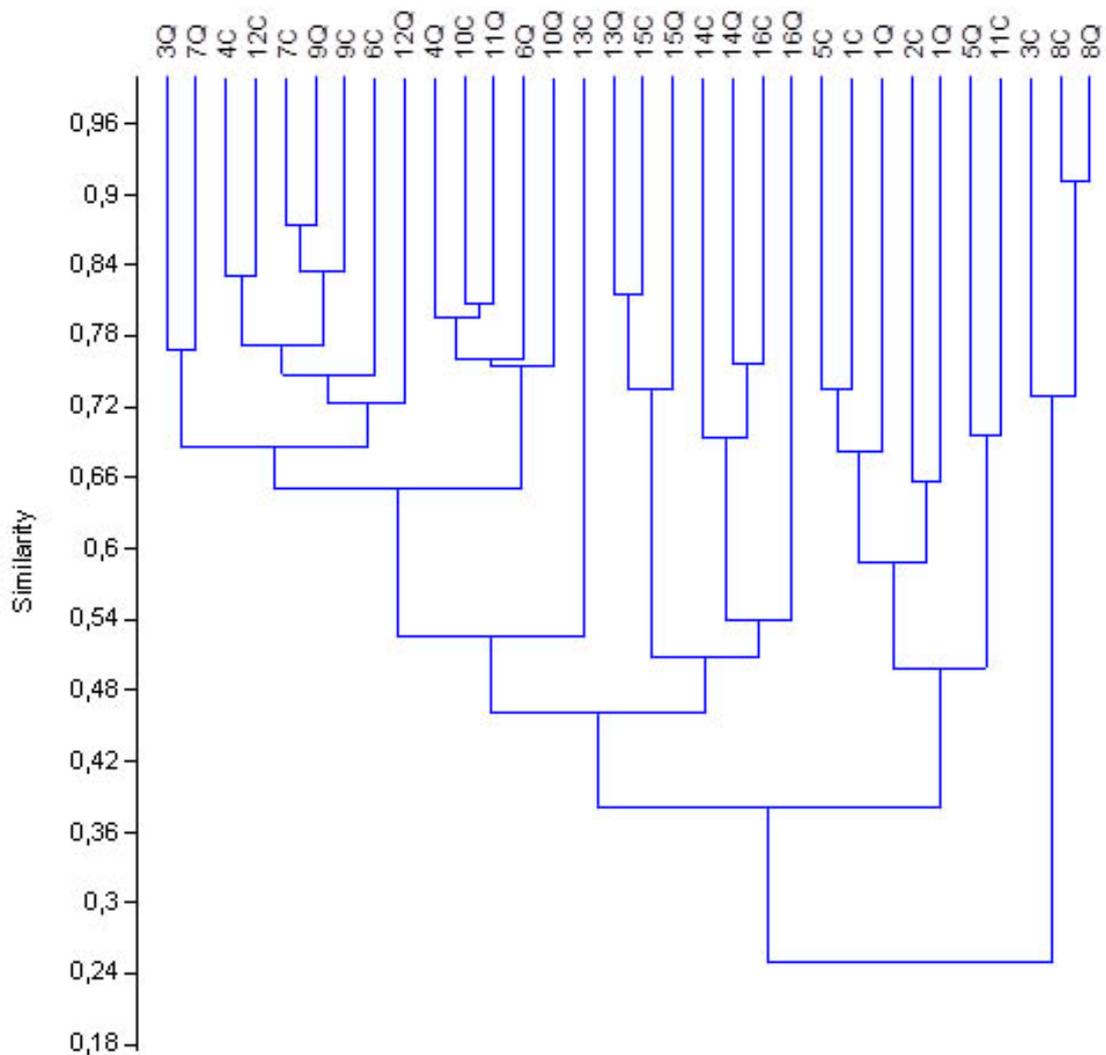


Figura 16: Dendrograma. Coeficiente de similaridade Bray-Curtis. O valor utilizado para delimitar os agrupamentos foi de 0,60.

Já o índice de diversidade de Shannon foi calculado para todas as amostras e posteriormente feita a média dos índices e o desvio padrão (DP). Os valores médios e

desvios padrões foram 1,216 ($\pm 0,335$) para a região controle, e 1,302 ($\pm 1,303$) para a região queimada (Figura 17).

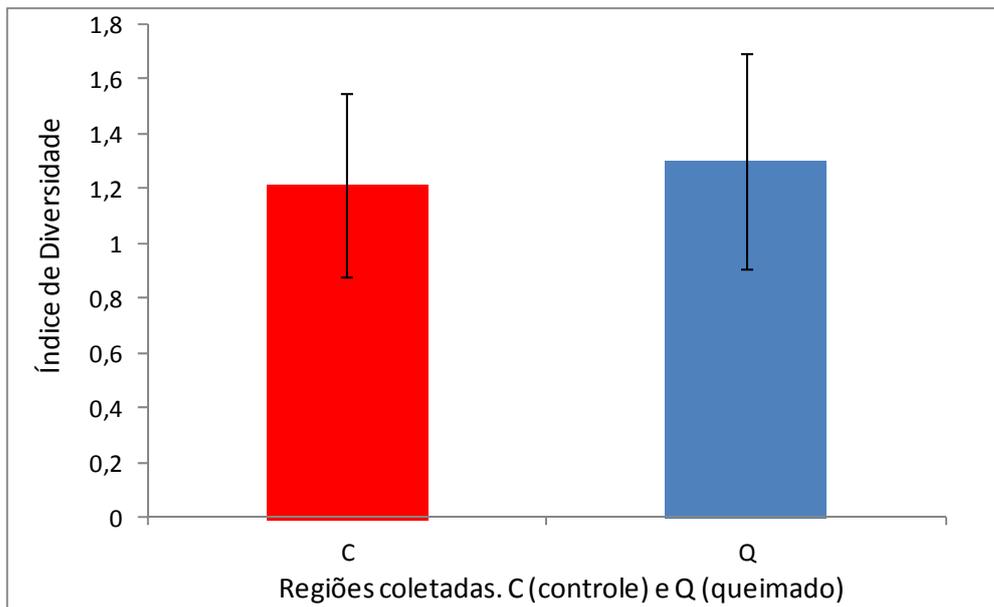


Figura 17: Gráfico de diversidade de Shannon. Em que C (controle) e Q (queimado). A média da região controle foi de 1,216 e o DP foi de $\pm 0,335$. E a média da região queimada foi de 1,303 e o DP foi de $\pm 0,394$.

Os dados da contagem de protozoários ativos podem ser observados na Figura 18, densidade de protozoários ativos encontrados em ambas as regiões em todas as coletas. Inicialmente, nas duas primeiras coletas, após o evento do fogo, não houve mudança significativa na comunidade de protozoários. Na terceira coleta houve uma diminuição de protozoários na região queimado e um aumento destes na região controle. Nas quatro coletas seguintes (coletas 4, 5, 6 e 7) houve uma diminuição de protozoários na região controle e quantidade destes ficou semelhante em ambas as regiões estudadas (controle e queimado). Na oitava coleta houve um pico na densidade de protozoários em ambas as regiões, especialmente na região queimado. Finalmente, nas últimas 8 coletas, a densidade de protozoários diminuiu e ficou equivalente em ambas as regiões.

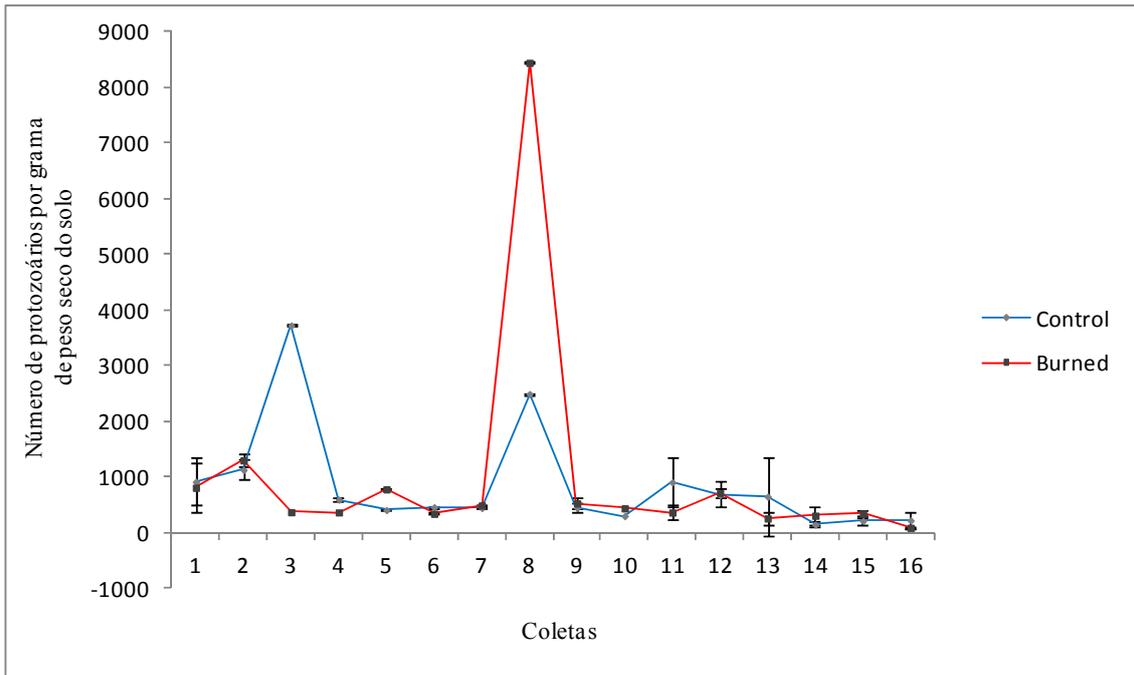


Figura 18: Número de protozoários ativos por grama de peso seco de solo para cada amostra em cada região, Controle e Queimada, os números de 1 à 16 representam as coletas.

As Figuras 19, 20, 21, 22, 23 e 24 mostram imagens de alguns representantes de protozoários ciliados dos dois grupos mais abundantes (Figuras 19, 20, 21 e 22) e do grupo mais rico (Figuras 23 e 24). Com exceção das Figuras 20 e 22 que foram coradas com lugol fraco, todas as demais figuras foram impregnadas com proteínato de prata pelo uso da técnica de protargol, com a utilização desta técnica foram corados até o momento 7 morfoespécies, destas apenas duas foram identificadas à gênero, morfoespécie 6 e morfoespécie 11 ambas foram classificadas como *Oxytricha*.

Sendo que as Figuras 19 e 20 representa a morfoespécie mais abundante (sp31, Colpodea) e as Figuras 21 e 22 representam a segunda morfoespécie mais abundante (sp1, Hymenostomata). As Figuras 23 e 24 representam o grupo mais rico (Hypotrichia).

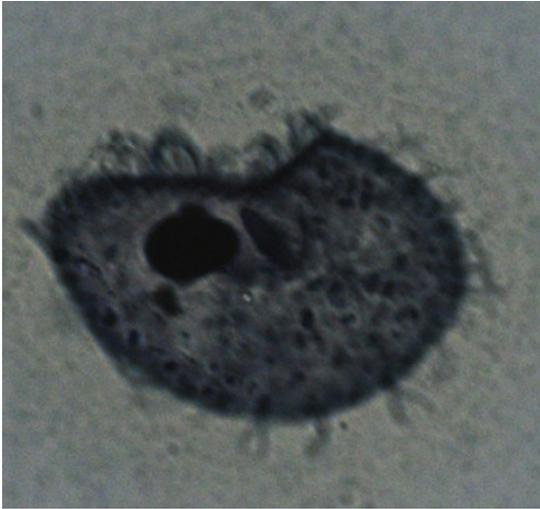


Figura 19: Técnica Protargol.
Morfoespécie sp31 (Colpodea)



Figura 20: Lugol Fraco.
Morfoespécie sp31 (Colpodea)

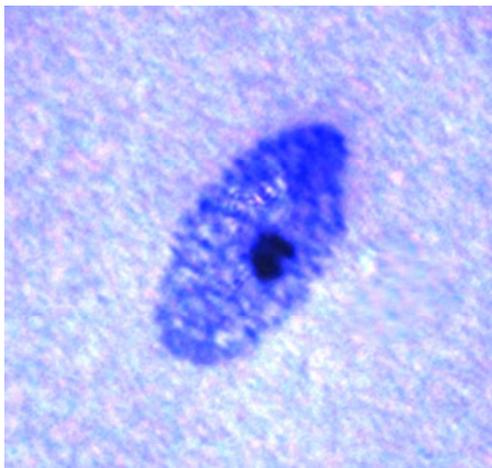


Figura 21: Técnica Protargol.
Morfoespécie sp1 (Hymenostomata)



Figura 22: Lugol Fraco.
Morfoespécie sp1 (Hymenostomata)

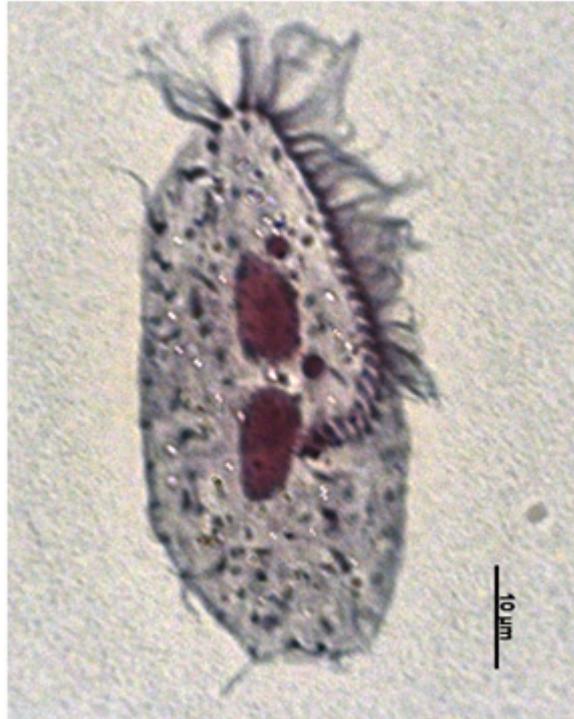


Figura 23: Técnica Protargol. Morfoespécie 6 (Hypotricha – *Oxytricha* sp.)

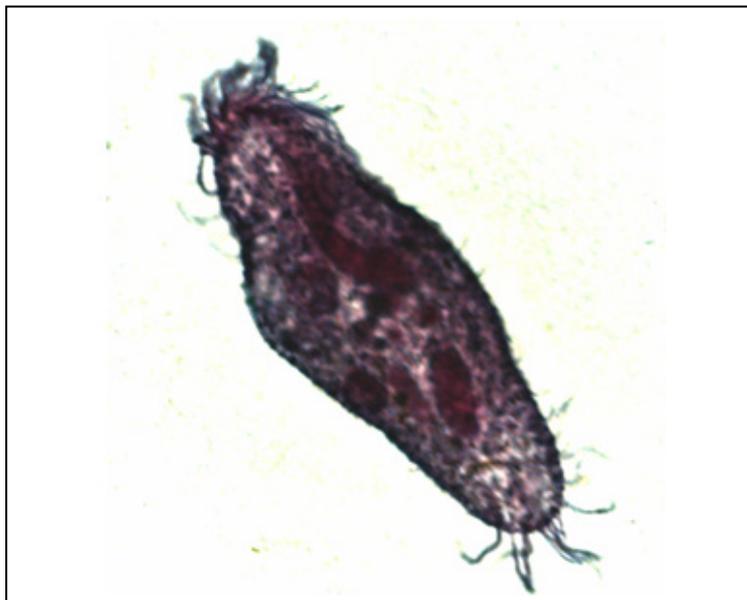


Figura 24: Técnica Protargol. Morfoespécie sp11 (Hypotricha – *Oxytricha* sp.)

6. Discussão

6.1. Relação entre variáveis ambientais e biológicas

Segundo o Teste de Monte Carlo, a temperatura média, umidade média relativa do ar, evapotranspiração, areia grossa, areia média e argila foram as variáveis que mais influenciam positivamente na abundância das morfoespécies ativas em ambas as regiões coletadas (Figura 9; Figura 10). Em relação à umidade média relativa do ar, esta pode ter contribuído para a manutenção da umidade do solo tornando o ambiente favorável ao desencistamento e locomoção dos protozoários (Figura 9). O aumento da umidade também está correlacionado com a chuva, que causa o aumento na película de água que se encontra em torno dos grãos de areia, aumentando nichos para serem explorados pelos protozoários. A chuva, durante o período estudado, possivelmente também causou migração de cistos de locais que não sofreram queima, para a região Queimada estudada, facilitando a recolonização (Tabela 1). Ela também pode ter contribuído para a reintrodução de matéria orgânica.

O aumento da temperatura torna o ambiente favorável ao desencistamento, um aumento na atividade dos protozoários e conseqüentemente aumento na reprodução. Segundo Sleigh (1973) crescimento e reprodução, dos protozoários ativos, aumentam com a elevação da temperatura, em seguida, cessam devido ao encistamento. O aumento da evapotranspiração pode tornar o ambiente favorável ao desencistamento, pois este pode causar um aumento momentâneo na umidade do ar, sendo assim, os protozoários podem se tornar ativos e se reproduzirem tendo em vista que seu tempo de geração é curto, e logo voltam a encistar novamente (Figura 9).

O aumento da porcentagem de argila possivelmente confere proteção aos protozoários da predação, causando uma barreira física, pois o encaixe entre estes grãos de areia causam uma diminuição no espaço existente no solo, dificultando desta forma a

locomoção dos predadores (Figura 10). A mesofauna (principalmente enquitreídeos, colêmbolos e ácaros, considerados predadores de protozoários) depende de macroporos existentes no solo durante o movimento (Ekschimtt *et. al.*, 2008), desta forma, a redução dos espaços no solo serve de proteção aos protozoários, pois prejudica a locomoção dos predadores.

Por outro lado o aumento na porcentagem dos grãos de areia (areia grossa e areia média) pode causar um possível aumento de habitats, para as espécies que têm maior tamanho, como grupos maiores de protozoários, tais como Hypotrichia (Figura 10).

6.2. Diversidade, riqueza e abundância

Das 102 morfo-espécies observadas na técnica de placa de Petri umedecida, Figura 11, apenas 32 morfo-espécies encontraram-se ativas no momento da coleta, fato verificado pela técnica qualitativa e quantitativa de protozoários ativos, Figura 12, evidenciando que a maior parte da riqueza total não se encontra ativa na maior parte do tempo. Somente 25,49% da riqueza para cada região estudada foi observada na sua forma ativa, estes dados corroboram a afirmação feita por Foissner (1987) que boa parte dos protozoários se encontram inativos, na maior parte do tempo. A diversidade críptica (dos protozoários inativos) pode ser uma forma de avaliar a capacidade de restauração do ambiente, quanto maior for essa diversidade, provavelmente maior será a chance de restauração após um impacto ou estresse ambiental.

As 102 morfo-espécies encontradas nas 32 amostras podem ser consideradas um número relativamente baixo quando comparado com um estudo de Foissner (1998) realizado em Shimba Hills no Quênia (África) em que foram encontrados 125 táxons de ciliados em 9 amostras investigadas. E também quando comparado com Blatterer e Foissner (1988) que obtiveram 139 espécies de ciliados em 21 amostras da Austrália. Uma possível explicação para uma menor riqueza nas amostras analisadas pode ser

resultado do estresse frequente que solos de cerrado sofrem decorrente do fogo (comum em regiões de cerrado), do pH baixo e da alta concentração de alumínio no solo. A pressão exercida pelo estresse do fogo pode ter muita influência na riqueza observada, pois o cerrado estudado apresenta um regime de queimada, visto que a região utilizada como Controle neste estudo sofreu queima em 2006.

Esse número relativamente baixo de morfo-espécies também pode ser explicado por conta de todo o estresse ambiental sofrido, que leva à colonização do local por espécies adaptadas à essa condição. Sabe-se que em ambientes extremos ocorre redução da diversidade, Brock (1978) definiu ambiente extremo como um ambiente em que apenas um número limitado de espécies consegue viver e reproduzir; embora o cerrado não seja um ambiente extremo, o fato de sofrer com esses estresses pode explicar essa diversidade relativamente baixa.

Outra explicação para essa baixa diversidade pode ser o fato das amostras terem sido coletadas em uma região de tamanho limitado, sendo assim, outras áreas do cerrado bem mais distantes não tiveram representação e talvez essas pudessem apresentar uma riqueza um pouco diferente da encontrada, pois as regiões poderiam estar sofrendo com os estresses apresentados anteriormente de formas diferentes, talvez mais brandas. Este fato pôde ser observado no trabalho de Foissner (1998) onde foram amostradas regiões diferentes dentro de uma mesma área de estudo como: área pantanosa, floresta e pastagem. No caso do presente trabalho foram amostradas somente regiões de cerrado *sensu stricto*, porém este apresenta regiões de mata galeria e em alguns locais região de campo limpo, e estas áreas não foram amostradas.

Observando as Figuras 11 e 12 fica evidente que o grupo taxonômico com o maior número de morfoespécies foi Hypotrichia, em ambos os métodos de análise (placa de Petri umedecida e análise qualitativa e quantitativa de protozoários ativos) e em ambas

as regiões estudadas. Acosta-Mercado e Lynn (2002), em um estudo realizado em uma floresta de Porto Rico, encontraram as subclasses Hypotrichia e Stichotrichia como sendo as mais frequentes e dominantes. A presença de cirros e sua forma achatada, permite o protozoário ciliado se movimentar sobre superfícies, entre os grãos de areia, entre as micropartículas do solo podendo assim explicar o sucesso desses organismos em ambientes de solo.

Por outro lado, o grupo mais abundante, dentre os protozoários ativos, foi Colpodea com 51,81% da abundância na região Controle e 50,64% na região Queimado. O grupo Hymenostomata foi o segundo mais abundante, correspondendo a 37% da abundância na região Controle, e 33,14% na região Queimada (Figura 13). Os representantes desses dois grupos tendem a ser pequenos, o que pode conferir uma vantagem a eles em situações com pouca água no solo. Assim, podem estar presentes de forma ativa, mesmo em momentos com pouca umidade no solo, quando as películas de água nos grãos de solo são mais finas.

As morfoespécies mais abundantes de cada um desses dois grupos apresentam cerca de 50 μ m e 25 μ m respectivamente, sendo assim, provavelmente quando as condições ambientais se tornam favoráveis estes se desencistam rapidamente iniciam sua reprodução e aumentam o número de organismos. Por serem menores estes se reproduzem mais rápido podendo explorar melhor o nicho com menor competição.

Sendo pequenos estes podem também se locomover facilmente e ficar em camadas mais profundas do solo onde a umidade provavelmente é maior. Já os Hypotrichia por serem maiores provavelmente demoram um pouco para desencistar, quando em condições favoráveis, e iniciar sua reprodução. Estes também podem se locomover para camadas mais profundas do solo, porém deve haver uma maior competição no caso deste grupo, pois estes são maiores e necessitam de maior quantidade de nutrientes, e

esta competição também pode ser um fator que mantém um número baixo de organismos neste grupo após o estresse do calor.

Sabe-se que amebas de vida livre são os consumidores dominantes de bactérias no solo (Clarhom, 1981; Elliot, 1977), sendo responsáveis por 60% da redução total da população bacteriana (Clarhom, 1981). As amebas são também um dos principais protistas presentes na microfauna dos ecossistemas florestais tropicais (Krashevskaya et al., 2007). Entretanto, foi observada a quase ausência de morfo-espécies de amebas ao longo do experimento. Segundo Altenburger, Ekelund e Jacobsen (2010) afirmam que amebas apresentam uma colonização tardia se comparado com flagelados e ciliados, o que pode explicar os resultados obtidos no presente trabalho.

Uma outra provável explicação para a baixa quantidade de amebas observadas no presente trabalho, pode ser a ação combinada de temperaturas elevadas com aumento da precipitação que pode ter causado uma redução na abundância destas, visto que o cerrado é considerado uma savana e este apresenta temperaturas elevadas e a máxima pluviométrica ocorre de outubro a março, ou seja, na época em que há ocorrência de altas temperaturas. Estes dados corroboram o que foi observado por Darby *et al.* (2011) que realizaram um estudo para verificar se a temperatura do solo e alteração da frequência de precipitação pode afetar a composição da teia alimentar, realizado no deserto Planalto do Colorado, em Utah, o efeito da temperatura e da frequência de precipitação foi significativo apenas para as amebas, sendo assim, o aumento sazonal na abundância de amebas foi reduzido com a combinação da elevação da temperatura e aumento da frequência de precipitações.

Ainda não foi possível obter espécies de protozoários que possam ser utilizadas como indicadoras de queimada em solos de cerrado, pois a taxonomia da maioria dos protozoários ainda não foi realizada. Porém a ausência do grupo Ameba e do grupo

Tecameba e a presença do grupo Cyrtophorida na região queimada podem indicar que estes grupos apresentam um potencial para serem grupos indicadores de queimada. Sabe-se que a presença ou ausência de uma espécie ou de um determinado grupo de protozoários não é um indicador confiável, porém é importante resaltar estes dados como uma possibilidade de grupo indicador de queimadas. Também é importante resaltar que mais estudados principalmente em ambientes que não apresentem regime de queimadas, como ocorre no cerrado em questão, são necessários.

No índice de Jaccard foram utilizadas as 102 morfoespécies, e neste foi possível observar que, mesmo com o impacto do fogo sobre um dos locais de coleta, eles ainda podem ser considerados similares, pois o dendrograma (Figura 15) não separou as amostras da região controle e da região queimada. Considerando os 5 agrupamentos que apresentam os valores mais altos de similaridade, é possível observar que 4 agrupamentos ocorreram entre as duas regiões (Controle e Queimada) e apenas um ocorreu entre a mesma região de coleta, Queimada. Isto enfatiza que tais regiões são similares.

No coeficiente de Bray-Curtis foram utilizados os dados do método de análise qualitativa e quantitativa de protozoários ativos, ou seja, apenas 32 morfoespécies. De modo geral, para os protozoários ativos, o fogo não teve um efeito muito grande; o estresse causado por este não foi suficiente para ocasionar uma mudança na estrutura da comunidade e fazer com que as regiões analisadas se tornassem diferentes. Porém nas primeiras coletas houve uma similaridade na estrutura da comunidade, tanto para abundância quanto para riqueza, este fato pode ser observado no dendrograma do índice de Jaccard (Figura 15) em que as coletas iniciais se agrupam entre si, pois os protozoários apresentaram-se adaptados a este estresse, mostrando que este ambiente apresenta uma alta capacidade de resistência e de resiliência. Assim como no índice de

similaridade Jaccard, o coeficiente de similaridade de Bray-Curtis (Figura 16), mostra que as regiões são similares e, neste caso, a similaridade foi mais alta do que a obtida com o índice de Jaccard (Figura 15).

Observando os 6 agrupamentos que apresentaram os maiores valores de similaridade, metade deles ocorre entre região controle e região queimada. Desta forma, reafirmando a similaridade entre as regiões obtida através do índice de Jaccard.

Assim como os dados obtidos pelo índice de similaridade de Jaccard, pelo coeficiente de similaridade de Bray-Curtis e pelo índice de diversidade de Shannon indicam que as regiões estudadas são similares, os dados de diversidade críptica e de abundância também sugerem o mesmo. Do total de morfoespécies encontradas na análise de diversidade críptica 55,88% é igual para ambas às regiões; considerando a análise de protozoários ativos, ou seja, abundância tem-se que 62,5% das morfoespécies ocorrem em ambas às regiões. Em relação as morfoespécies mais abundantes, estas são as mesmas para ambas as regiões estudadas e em porcentagem muito próximas; no caso da morfoespécie sp31, mais abundante, para região controle o valor obtido foi de 42,63% e para a região Queimada foi de 39,78%.

Os dados apresentados na Figura 18 mostram que o fogo não teve efeito direto sobre a densidade de protozoários. Inicialmente (duas primeiras coletas) o fogo não causou mudança significativa na densidade de protozoários.

Na terceira coleta houve uma diminuição na densidade de protozoários na região queimado (Figura 18), este fato ocorreu provavelmente devido a remoção da biomassa aérea pelo fogo causando desta forma um aumento na incidência de radiação solar no solo, e este aumento da radiação solar pode ter levado a uma diminuição da umidade do solo (Medina e Silva, 1991) o que ocasionou um aumento no encistamento dos

protozoários, diminuição momentânea da densidade, decorrente da diminuição da disponibilidade de água no solo.

Subsequentemente, nas quatro coletas seguintes (coletas 4, 5, 6 e 7) a densidade de protozoários foi semelhante em ambas as regiões estudadas (Figura 18), sendo que a redução da densidade foi maior na região controle. Esta diminuição é provavelmente o resultado do aumento da temperatura (coletas 4, 5 e 7) que causou um aumento na evapotranspiração e redução na umidade (Tabela 1) levando a uma intensificação da seca.

Porém, com o decorrer do tempo coleta 8, verificou-se um pico na densidade de protozoários para ambas as regiões, mas principalmente na região queimado (Figura 18). Este aumento na densidade de protozoários pode ser resultado do aumento na densidade bacteriana possivelmente pela diminuição da predação pelos protozoários nas coletas 3, 4, 5, 6 e 7. Este fato ocorreu provavelmente em conjunto com o aumento da qualidade de matéria orgânica fresca, pois as gramíneas iniciaram a rebrota aproximadamente um mês após a ocorrência do incêndio, ambos diminuição na predação e aumento da qualidade de matéria orgânica fresca podem ter contribuído para o aumento da densidade bacteriana que conseqüentemente ocasionou um aumento na densidade de protozoários, levando ao pico na densidade (Figura 18).

Nas últimas oito coletas a densidade de protozoários foi equivalente nas duas regiões (Figura 18), houve diminuição na densidade, isto provavelmente devido ao controle da população bacteriana pelos protozoários, o que indica que esta comunidade apresenta capacidade de restauração.

Ao longo das coletas não foi observado aumento na quantidade de matéria orgânica (Tabela 3), principalmente na região queimado, esse fato é o oposto do que Heyward e Barnette (1934) notaram, pois estes observaram que queima frequente de

grama em baixo de pinheiros na planície costeira do sudeste dos Estados Unidos aumenta o teor de matéria orgânica nos primeiros 10 a 15 cm do perfil do solo. Porém, a qualidade da matéria orgânica pode ter aumentado, pois aproximadamente após um mês as gramíneas começaram a rebrotar no cerrado, local de estudo do presente trabalho.

Estes dados mostram novamente que o fogo não foi capaz de causar mudanças na estrutura da comunidade; apenas causa uma diminuição na abundância decorrente de efeitos indiretos, porém a riqueza se manteve e posteriormente a abundância foi recuperada, indicando desta forma a capacidade de restauração destes ambiente, e eventualmente a adaptação dos protozoários em relação ao estresse (fogo). A diversidade críptica pode ter contribuído para esta restauração, pois quanto maior for essa diversidade, provavelmente maior será a chance de restauração após o estresse ambiental (Esteban e Finlay, 2010).

Uma hipótese para essa rápida recuperação dos protozoários pode ser a adaptação da comunidade ao estresse, fogo. Pois a área de cerrado estudada sofre um regime de queima, ou seja, uma vez a cada dois anos há ocorrência de fogo, devido a esta alta frequência de queimas a comunidade de protozoários pode estar adaptada e se recuperar facilmente. Além disso, a comunidade de protozoários já pode ter sido pré-selecionada, organismos que apresentem uma rápida formação de cistos, e devido a este fato se recuperar rápido frente a este estresse. Pois três meses após a ocorrência do fogo a região Queimada já estava semelhante à região Controle.

7. Conclusões

Sendo assim, a composição e a densidade de protozoários foram avaliadas sendo que foi possível obter 102 morfoespécies divididas em 12 grupos taxonômicos (estes sendo Amebas, Tecamebas e Ciliados), e a densidade de protozoários na maioria das coletas manteve-se entre 300 – 900 protozoários por grama de peso seco.

Em relação à obtenção de espécies que pudessem ser indicadoras de queimada, não foi possível a obtenção destas, primeiro porque a maioria das morfoespécies ainda não foram identificadas e segundo porque o cerrado em estudo sofre regime de queimas e provavelmente os protozoários encontram-se adaptados. Porém foi possível observar que três grupos apresentaram potencial para serem indicadoras de queimada (Amebas, Tecamebas e Cyrtophorida).

Portanto neste estudo observou-se que, mesmo com o estresse causado pelo fogo à estrutura da comunidade de protozoários não se alterou significativamente, pois a riqueza foi mantida e apenas a abundância diminuiu e logo foi recuperada. O fogo não teve efeito direto sobre a comunidade de protozoários, mas sim um efeito indireto intensificando o efeito da seca. Portanto, as duas regiões analisadas não se tornam diferentes, permaneceram similares como foi enfatizado em todo o trabalho descrito. Assim, esses microrganismos mostraram-se adaptados ao ambiente que sofre frequentes eventos de fogo, pois eles rapidamente se recuperaram.

8. Referências Bibliográficas

Acosta-Mercado, D. e Lynn, D.H.: A preliminary assessment of spatial patterns of soil ciliate diversity in two subtropical forests in Puerto Rico and its implications for designing an appropriate sampling approach. **Soil Biology & Biochemistry** 34, 1517-1520. 2002.

Acosta-Mercado, D. e Lynn, D.H.: Soil Ciliate Species Richness and Abundance Associated with the Rhizosphere of Different Subtropical Plant Species. **J. Eukaryot. Microbiol.**, **51(5)**: p.582–588. 2004.

Aescht, E. e Foissner, W.: Enumerating Active Soil Ciliates by Direct Counting. *In*: **Protozoology**. Eds: Lee, J.J. & Soldo, A.T., Society of Protozoologists. 1992

Alphei, J.; Bonkowski, M. e Scheu, S.: Protozoa, Nematoda and Lumbricidae in the rhizosphere of *Hordelymus europaeus* (Poaceae): faunal interactions, response of microorganisms and effects on plant growth. **Oecologia** **106**: p.111 – 116. 1996.

Altenburger, A.; Ekelund, F. e Jacobsen, C. S.: Protozoa and their bacterial prey colonize sterile soil fast. **Soil Biology & Biochemistry** (42), 1636-1639. 2010.

Araújo, M. S.; Della Lucia, T. M. C.; Ribeiro, G. A. e Kasuya, M. C. M.: Impcato da queima controlada da Cana-de-Açúcar na nidificação e estabelecimento de colônias de *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology** 32(4), 685-691. 2003.

Bamforth, S.S.: Rhizosphere-soil comparisons in subtropical forests of southeastern Louisiana. **Tran. Am. Microsc. Soc.** 95, 613 – 621. 1976.

Bardgett, R. D.: The biology of soil: a community and ecosystem approach. **Oxford University Press**, New York. 2005.

Berthold, A. e Palzenberger, M.: Comparison between direct counts of active soil ciliates (Protozoa) and most probable number estimates obtained by Singh's dilution culture method. **Biol. Fertil. Soils.** **19**: p.348– 356. 1995.

Blatterer, H. e Foissner, W.: Beitrag zur terricolen Ciliatenfauna (Protozoa, Ciliophora) **Australiens. Stapfia** (Linz) 17, 1-84. 1988.

Brock, T. D.: Thermophilic Organisms and Life at High Temperatures. **Springer Verlag**, New York. 1978.

Busse, M.D. e DeBano, L.F.: Soil Biology. **In: Wildland Fire in Ecosystems Effects of Fire on Soil and Water**. Eds: Neary, D.G.; Ryan, K.C. & DeBano, L.F. Gen. Tech. Rep. RMRS-GTR-42-vol.4. U.S. p.250. 2005.

Clarholm, M.: Protozoan grazing of bacteria in soil. Impact and importance. **Microbiol. Ecol.** 7: p.343– 350. 1981.

Coutinho, L.M.: **Contribuição ao conhecimento do papel ecológico das queimadas na floração de espécies do cerrado**. (Tese de livre-docência). Inst. Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1976.

Coutinho, L.M.: O conceito de cerrado. **Rev. Bras. Bot.** 1: p.17-23. 1978a.

Coutinho, L.M.: Aspectos ecológicos do fogo no cerrado. I – A temperatura do solo durante as queimadas. **Rev. Bras. Bot.** 1, 93-96. 1978b.

Coutinho, L.M.: Aspectos ecológicos do fogo no Cerrado. Nota sobre a ocorrência e datação de carvões encontrados no interior de solo sob o Cerrado. **Revista Brasileira de Botânica** 4: p.115-118. 1981.

Coutinho, L.M.: Fire in the Ecology of Brazilian Cerrado. **In: Fire in the tropical biota: Ecological processes and global challenges**. Eds. Goldammer, J.G., Ecological Studies, Springer-Verlag, Berlin, Germany. p. 82-105. 1990.

Crotty, F. V.; Adl, S. M.; Blackshaw, R. P. e Murray, P. J.: Protozoan Pulses Unveil Their Pivotal Position Within the Soil Food Web. **Microb Ecol** (63), 905–918. 2012.

Darby, B. J.; Neher, D. A.; Housman, D. C. e Belnap, J.: Few apparent short-term effects of elevated soil temperature and increased frequency of summer precipitation on the abundance and taxonomic diversity of desert soil micro- and meso-fauna. **Soil Biology & Biochemistry** (43), 1474-1481. 2011.

Dieckmann, J.: An improved protargol impregnation for ciliates yielding reproducible results. **Europ. J. Protistol.** (31): 372 – 382. 1995.

Disponível em: <http://cerrado.dodonov.net/index.html>, acessado em 26. Mar. 2010.

Disponível em: <http://www.cppse.embrapa.br/>

Ekelund, F.; Frederiksen, H.B. e Rønn, R.: Population Dynamics of Active and Total Ciliate Populations in Arable Soil Amended with Wheat. **Applied and Environmental Microbiology**, **68 (3)**: 1096–1101. 2002.

Ekschmitt, K., Kandeler, E., Poll, C., Brune, A., Buscot, F., Friedrich, M., Gleixner, G., Hartmann, A., Kästner, M., Marhan, S., Miltner, A., Scheu, S. e Wolters, V.: Soil-carbon preservation through habitat constraints and biological limitations on decomposer activity. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, 171, 27 - 35. 2008.

Elliot, E. T., e D. C. Coleman.: Soil protozoan dynamics in a shortgrass prairie. **Soil Biol. Biochem.** (9), 113-118. 1977.

Esteban, G.F. e Finlay, B.F.: Conservation work is incomplete without cryptic biodiversity. *Nature*, 463, 293. 2010.

Febvre-Chevalier, C.: Phylum Actinopoda, Class Heliozoa. **In: Handbook of Protoctista.** Eds: Margulis, L.; Corliss, J.O.; Melkonian, M. & Chapman, D.J., Jones and Bartlett Publishers, Boston, MD. P. 419-437. 1990.

Finlay, B.J.; Laybourn, J., e Strachan, I.: A technique for the Enumeration of Benthic Ciliated Protozoa. **Springer-Verlag 39**: p.375-377. 1979.

Foissner, W.: Soil protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and testaceans, bioindicators and guide to the literature. **Progress in Protistology 2**, p.69–212. 1987.

Foissner, W.: Diversity and ecology of soil flagellates. **In: The Biology of Free-living Heterotrophic Flagellates.** Eds: Patterson, D.J. & Larsen, J., Systematics Association, Clarendon Press, Oxford: p.93-112. 1991.

Foissner, W.: Estimating the species richness of soil protozoa using the "non-flooded Petri dish method". **In: Protozoology**. Eds: Lee, J.J. & Soldo, A.T., Society of Protozoologists. 1992.

Foissner, W. e Berger, H.: A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. *Freshwater Biology* 35, 375-482. 1996.

Foissner, W.: Global soil ciliate (Protozoa, Ciliophora) diversity: a probability-based approach using large sample collections from Africa, Australia and Antarctica. **Biodiversity and Conservation** 6: p.1627–1638. 1997.

Foissner, W.: Notes on the soil ciliate biota (Protozoa, Ciliophora) from the Shimba Hills in Kenya (Africa): diversity and description of three new genera and ten new species. **Biodiversity and Conservation**, 8, 319-389. 1998.

Foissner, W.: Two new terricolous spathidiids (Protozoa, Ciliophora) from tropical Africa: *Arcuospathidium vlassaki* and *Arcuospathidium bulli*. **Biol Fertil Soils** 30: p.469–477. 2000.

Foissner, W.; Chao, A. e Katz, L. A.: Diversity and geographic distribution of ciliates (Protista: Ciliophora). **Biodivers Conserv**. 2007.

Gel'tser, J.G.: Free-living protozoa as a component of soil biota. **Soil Biology** 8, p.66–79. 1991.

Gill, A.M.: Fire and the Australian flora: a review. **Aust. For.** 38: p.4-25. 1975.

Griffiths, B.S.: A comparison of microbial-feeding nematodes and protozoa in the rhizosphere of different plants. **Biology and Fertility of Soils** 9: p.83–88. 1990.

Griffiths, B.S.; Bonkowski, M.; Dobson, G. & Caul, S.: Changes in soil microbial community structure in the presence of microbial feeding nematodes and protozoa. **Pedobiologia** 43: p. 297–304. 1999.

Griffiths, B.S.; Kitz, K.; Bardgett, R.D.; Cook, R.; Christensen, S., Ekelund, F.; Sørensen, S.J.; Ba^oa^oth, E.; Bloem, J.; de Ruiter, P.C.; Dolfing, J. e Nicolardot, B.:

Ecosystem response of pasture soil communities to fumigation-induced microbial diversity reductions: an examination of the biodiversity– ecosystem function relationship. **Oikos** **90**: p. 279– 294. 2000.

Hammer, O.; Harper, D. A. T. & Ryan, P. D. Past: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9 p. 2001.

Heyward, F. e Barnette, R.M.: Effect of frequent fires on chemical composition of forest soils in longleaf pine region. **Univ. Fla. Agric. Exp. Stn. Tech. Bull.**, 265. 1934.

Hoffmann, W.A.: Fire and population dynamics of woody plants in a neotropical savanna: matrix model projections. **Ecology** **80**: p.1354-1369. 1999.

IBGE. Disponível em < <http://www.estadao.com.br/noticias/vidae,ibge-revela-que-cobertura-original-do-cerrado-foi-reduzida-pela-metade,603567,0.htm>> 2010.
Acessado em 10/04/2011.

Ingham, E.R.: Methods of soil analysis part 2 Microbiological and biochemical properties. In: Bigham, J.M. (Eds), **Protozoa**. Soil Science Society of America Book, pp. 491-515. 1994.

Jenkinson, D.S. e Ladd, J.N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Paul, E.A. e Ladd, J.N. (eds), **Soil Biol. Biochem.**, 5:415-471. 1981.

Klink, C.A. e Machado, R.B.: Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology** **19 (3)**: p.707–713. 2005.

Klink, C.A. e Solbring, O.T.: Efeito do fogo na biodiversidade de plantas do Cerrado. **In: Biodiversidad y Funcionamiento de Pastizales y Sabanas em América Latina**. Eds: Sarmiento, G. & Cabido, M., CYTED y CIELAT, Venezuela. p. 231-244. 1996.

Krashevskaya, V.; Bonkowski, M.; Maraun, M. e Scheu, S.: Testate amoebae (protista) of an elevational gradient in the tropical mountain rain forest of Ecuador. **Pedobiologia** (51), 319–331. 2007.

Krashevskaya, V.; Maraun, M. e Scheu, S.: How does litter quality affect the community of soil protists (testate amoebae) of tropical montane rainforests? **FEMS Microbiol. Ecol.** 80, 603-607. 2012

Kuikman, P.J.; Jansen, A.G.; Van Veen, J.A. & Zehnder, A.J.B.: Protozoan predation and the turnover of soil organic carbon and nitrogen in the presence of plants. **Biol. Fertil. Soils** 10: p. 22– 28. 1990.

Laakso, J. e Setälä, H.: Sensitivity of primary production to changes in the architecture of belowground food webs. **Oikos** 87: p. 57– 64. 1999.

Lüftenecker, G.; Petz, W.; Foissner, W. & Adam, H.: The efficiency of a direct counting method in estimating the numbers of microscopic soil organisms. **Pedobiologia** 31: p.95–101. 1988.

Magurran, A.E.: Ecological diversity and its measurement. **Princeton University Press, Princeton, N.J.** 1988.

Martin, C.H. e Lewin, K.R.: Some notes on soil protozoa. **Phil. Trans. Roy. Soc. London, B** 05: p. 77-94. 1914.

Medina, E. e Silva, J.F.: Savannas of Northern South America: A steady state regulated by water-fire interactions on a background of low nutrient availability. **In: Savanna Ecology Management**. Eds: Werner, P.A., Blackwell Scientific Publications, Oxford, p.59-69. 1991.

Moreira, A.G.: Effects of fire protection on savanna structure in central Brazil. **Journal of Biogeography** 27: p.1021-1029. 2000.

Nardoto, G.B. e Bustamante, M.M.C.: Effects of fire on soil nitrogen dynamics and microbial biomass in savannas of Central Brazil. **Pesq. agropec. bras.** 38 (8): 955-962. 2003.

Oliveira, P.S. e Marquis, R.J.: **The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a Neotropical savanna**. Columbia University Press, New York. 2002.

Paul, E. A.: Soil microbiology and biochemistry. **Academic Press.** 3 ed. p.535. 2007.

Pussard, M.; Alabouvette, C. e Levrat, P.: Protozoan interactions with the soil microflora and possibilities for biocontrol of plant pathogens. **In: Soil Protozoa**. Eds: Darbyshire, J.F., CAB International, Cambridge, p.123–146.1994.

Quirino, B.F.; Pappas,G.J.; Tagliaferro, A.C.; Collevatti,R.G.; Leonardecz Neto,L.; da Silva, M.R.S.S.; Bustamante, M.M.C. e Kruger, R.H.: Molecular phylogenetic diversity of bacteria associated with soil of the savanna-like Cerrado vegetation. **Microbiological Research 164**: p.59-70. 2009.

Ribeiro, J. F. e Walter, B. M. T.: As Principais Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: Sano, S.M.; Almeida, S.P. de, Ribeiro, J. F. (ed.). **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. Cap. 6, p. 151-212. 2008

Rønn, R.; Griffiths, B.S.; Ekelund, F. e Christensen, S.: Spatial distribution and successional pattern of microbial activity and microfaunal populations on decomposing barley roots. **J. Appl. Ecol. 33**: p.662–672. 1996.

Russell, E.J. e Hutchinson, H.B.: The effect of partial sterilization of soil on the production of plant food. **J. Agricult. Sci. 3**: p.111-114. 1909.

Semenov, A.M.; Van Bruggen, A.H.C. e Zelenev, V.V.: Moving waves of bacterial populations and total organic carbon along roots of wheat. **Microbial Ecology 37**: p.116–128. 1999.

Sleigh, M. A.: **The Biology of Protozoa**. Edward Arnold, London. 1973.

Sohlenius, B.: The ecological potencial of the ectomycorrhizal mycelium. In: Read, D. J.; Lewis, D. H.; Fitter, A. H. e Alexander, I. J. (eds.) **Mycorrhizas in ecosystems**. Oikos (34), 186-194. 1980.

Suguio, K.: **Introdução à Sedimentologia**. Edgar Blucher. São Paulo, p.317. 1979.

Ter Braak, C.J.F.: Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. **Ecology 67** (6), 1167-79. 1986.

Torsvik, V.; Sørheim, R. e Goksøyr, J.: Total bacterial diversity in soil and sediment communities – a review. **Journal of Industrial Microbiology 17**: p.170–178. 1996.

Townsend, C. R.; Begon, M. e Harper, J. L.: Fundamentos em Ecologia. Ed. ARTMED. 2006.

Vargas, R. e Hattori, T.: The distribution of protozoa among soil aggregates. **FEMS Microbiology Ecology** **74**: p.73–78. 1990.

Zwart, K.B. e Brussaard, L.: Soil fauna and cereal crops. ***In: The Ecology of Temperate Cereal Fields***. Eds: Firbank, L.G., Carter, N., Darbyshire, J.F., Potts, G.R., Blackwell, Oxford, p. 139–168. 1991.

Wardle, D.A.: A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. **Biology Reviews** **67**: p.321–358. 1992.