

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**CIÊNCIA DO SOLO**

**TESE**

**Comunidade de Nematóides do Solo**  
**no Ecossistema do Pampa Austral da Argentina**  
**sob Diferentes Sistemas de Cultivo**

**EDUARDO ARIEL MONDINO**

**2010**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
CIÊNCIA DO SOLO**

**COMUNIDADE DE NEMATÓIDES DO SOLO NO ECOSISTEMA  
DO PAMPA AUSTRAL DA ARGENTINA SOB DIFERENTES  
SISTEMAS DE CULTIVO.**

**EDUARDO ARIEL MONDINO**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Ricardo Luiz Louro Berbara**

*e Co-orientação dos Professores*  
**João Pedro Pimentel**

*e*  
**Guillermo Alberto Studdert**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ.  
Fevereiro 2010

632.960982

M741c

T

Mondino, Eduardo Ariel, 1965-.

Comunidade de nematóides do solo no ecossistema do Pampa Austral da Argentina sob diferentes sistemas de cultivo. / Eduardo Ariel Mondino - 2010. x, 102 f.: il.

Orientador: Ricardo Luiz Louro Berbara.

Tese (doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Bibliografia: f. 95-102.

1. Nematoda – Pampas (Argentina) – Teses. 2. Nematoda – Cultivo – Pampas (Argentina) - Teses. 3. Biodiversidade – Pampas (Argentina) – Teses. 4. Ecossistemas – Administração – Pampas (Argentina) – Teses. I. Berbara, Ricardo Luiz Louro, 1957-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. I. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta dissertação, desde que seja citada a fonte

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

**EDUARDO ARIEL MONDINO**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

TESE APROVADA EM 26/02/2010

---

Ricardo Luiz Louro Berbara, Ph.D. UFRRJ  
(Orientador)

---

Everaldo Zonta, Dr. UFRRJ

---

Eliseo Jorge Chaves, Dr. INTA

---

Eliane Maria Ribeiro da Silva, Dra. EMBRAPA

---

Adriana Maria de Aquino, Dra. EMBRAPA

*A minha esposa Fernanda, pelo amor e apoio que me permitiram chegar até aqui.  
Aos meus filhos, Paloma e Hilario pelo amor e pelo tempo que faltei.*

DEDICO

*Si las puertas de la percepción  
quedaran depuradas,  
todo se habría de mostrar al hombre  
tal cual es: infinito*

WILLIAM BLAKE

## AGRADECIMENTOS

Ao Governo do Brasil, que através de seu Programa PEC-PG, logrei começar este sonho

A CAPES, pelo suporte financeiro, através da bolsa de Doutorado

Ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo da UFRuralRJ, pelos conhecimentos adquiridos

A minha esposa, Fernanda Covacevich, pelo enorme companherismo, paciência e incentivo nesses anos que passaram

A minha colega Dra Fernanda Covacevich pela orientação nas atividades nas técnicas em Biologia Molecular

Aos queridos Dr. Eliseo Chaves e o ajudante Germán Peluso, do Laboratorio de Nematologia do INTA (Argentina), pelo apoio no inicio de este projeto

Ao Prof. Dr. Ricardo L.L. Berbara, não apenas pela orientação, confiança e estímulo no projeto planejado, mas pelo apoio e ajuda primordial na estância no Brasil da minha família, minha gratidão

Aos Profs. Dr. Guillermo Studdert e Dr. João P. Pimentel pelas sugestões e correções no manuscrito da Tese e nas futuras publicações. A João pelas conversas em Nematologia e das outras

Ao Prof. Aldir por me permitir utilizar a “jóia Suíça” Wild Heerbrugg para a determinação dos nematóides

Ao Laboratorio de Nutrição Vegetal, Profs. Manlio S. Fernandes, Sonia R. de Souza por permitir a utilização do Laboratorio, aos colegas Leandro e Carlos pela ajuda e boa onda

Aos estimados estagiarios Nemilson, Camila, Fernanda, Daiana, Caroline, Vanessa e Renata, pela enorme colaboração no laboratorio

A Moraes e a Beth que foram importantes para a estadia no Brasil junto a minha família

À Secretaria do curso, Luciene, Roberto e Marquinho pela ajuda e orientação na tramitação a diario

Aos meus amigos e colegas do laboratorio de Biologia do Solo, Adriana, Natalia, Sael, Camila, Pedro pela amizade, ensinamentos, risos que tornaram meus dias de trabalho mais alegres

Aos meus amigos e companheiros de pos-graduação Orlando, Fabio, Patrick, Hugo, Adierson, Arcaângelo, Gláucio, Emmeris e todos que passaram por essa fase junto

Aos Profs. E. Zonta, E. Lima, M. Bacis, G. Pereira, Lúcia Helena, Ravelli, Aldir, Nelson Moura, Gabriel Santos, Roberto Rossiello, Erika pela amizade e boas conversas

E a todos aqueles que por esquecimento não citei, mas que de alguma forma também contribuíram em mais essa etapa da minha vida, agradeço.

## RESUMO GERAL

MONDINO, Eduardo Ariel. **Comunidade de nematóides do solo, no ecossistema do Pampa Austral da Argentina, sob diferentes sistemas de cultivo.** 2010. 102f. Tese (Doutorado em Ciências) Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

No Pampa Austral da Argentina, na Provincia de Buenos Aires, determinou-se a estrutura da comunidade de nematóides, sob dois sistemas de plantio (plantio direto e plantio convencional), com duas rotações (rotação agricultura-pastagem e rotação agricultura contínua) e duas condições de fertilização, com a dose de nitrogênio (N) de 120 kg N ha<sup>-1</sup> na forma de uréia (46-0-0) e sem N. Foram conduzidas quatro amostragens estacionais, realizou-se a extração dos nematóides do solo pelo método de flutuação-centrifugação. Determinaram-se os gêneros que compõem os diferentes grupos tróficos presentes. Estimou-se a abundância genérica, índices de diversidade: Shannon ( $H'$ ), Simpson (Ds), equitatividade ( $J'$ ) e riqueza (S), relações de grupos tróficos micófagos/bacteriófagos (m/b), micófagos/(micófagos+bacteriófagos) (m/m+b) e (micófagos+bacteriófagos)/fitoparasitas (m+b/fp) e índices de maturidade (IM), índice que exclue os cp1 (IM2-5), de parasitas de planta (IPP) e índice modificado de Yeates (mIM). Foi determinado o perfil faunal, pelo cálculo dos índices de estrutura (IS) e de enriquecimento (IE), como também foi calculado o índice canal (IC). Finalmente calculou-se os índices de diversidade, Shannon ( $H'$ ), Simpson (Ds), equitatividade ( $J'$ ), da comunidade de nematóides utilizando técnicas moleculares (PCR/RFLP- Polimorfismos de fragmentos de restrição) para a determinação do perfil molecular (*fingerprinting*).

**Palavras Chave:** Pampa Austral. Nematóides. Sistemas de cultivo. Índices de diversidade.

## RESUMEN

MONDINO, Eduardo Ariel. **Comunidad de nematodos del suelo, en ecosistema de la Pampa Austral de la Argentina, bajo diferentes sistemas de cultivo.** 2010. 102f. Tesis (Doctorado en Ciencias) Instituto de Agronomía, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

En la Pampa Austral de la Argentina, en la Provincia de Buenos Aires, se determinó la estructura de la comunidad de nematodos, bajo dos sistemas de cultivo (siembra directa y sistema convencional), con dos rotaciones (rotación agricultura-pastura y rotación agricultura continúa) y dos condiciones de fertilización, con una dosis de nitrógeno (N) de 120 kg N ha<sup>-1</sup> en la forma de urea (46-0-0) y sin N. Fueron realizados cuatro muestreos estacionales, se realizó la extracción de los nematodos del suelo por el método de flutuación-centrifugación. Se determinaron los géneros que componen los diferentes grupos tróficos. Se estimó la abundancia genérica, índices de diversidad: Shannon ( $H'$ ), Simpson (Ds), equitatividad ( $J'$ ) y riqueza (S), relaciones de grupos tróficos micófagos/bacteriófagos (m/b), micófagos/(micófagos+bacteriófagos) (m/m+b) y (micófagos+bacteriófagos)/fitoparasitos (m+b/fp) y los índices de madurez (IM), índice que excluye los cp1 (IM2-5), de parásitos de plantas (IPP) y el índice modificado de Yeates (mIM). Fue determinado el perfil faunal, por el cálculo de los índices de estructura (IS) y de enriquecimiento (IE), como también fue calculado el índice canal (IC). Finalmente se calculó los índices de diversidad, Shannon ( $H'$ ), Simpson (Ds), equitatividad ( $J'$ ), de la comunidad de nematodos utilizando técnicas moleculares (PCR/RFLP- Polimorfismos de fragmentos de restricción) para la determinación del perfil molecular (*fingerprinting*).

**Palabras Clave:** Pampa Austral. Nematodos. Sistemas de cultivo. Índice de diversidad.



## ABSTRACT

MONDINO, Eduardo Ariel. **Community of soil nematodes in the ecosystem of the southern Argentine pampas, under different cropping systems.** 2010. 102f. Thesis (Ph.D. in Science) Instituto de Agronomía, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ

In the Southern Pampas of Argentina, Buenos Aires State, we determined the community structure of nematodes, under two tillage systems (no tillage and conventional tillage), with two rotations (crop-rotation and pasture and crop-rotation) and two conditions of fertilization, with the dose of nitrogen (N) 120 kg N ha<sup>-1</sup> as urea (46-0-0) and without N. Were conducted four seasonal samplings, there was the extraction of soil nematodes by flotation-centrifugation. It was determined the genera that make up the different trophic groups present. We estimated the genera abundance, diversity index Shannon ( $H'$ ), Simpson ( $D_s$ ), evenness ( $J'$ ) and richness ( $S$ ), the relationships of trophic groups fungal feeders/bacterial feeders (m/b), fungal feeders / (bacterial feeders + fungal feeders) (m/m+b), and (bacterial feeders + fungal feeders)/plant parasites (m+b/fp) and maturity indices, Maturity index (MI), Maturity index without c-p 1 (MI 2-5), plant parasite index (PPI) and Yeates index (mMI). Was determined the faunal profile, by calculating the structural index (SI) and enrichment index (EI) and we calculated the channel index (CI). Finally it was determined the diversity index Shannon ( $H'$ ), Simpson ( $D_s$ ), evenness ( $J'$ ) of nematodes community using molecular techniques (PCR/RFLP- polymorphisms of restriction fragments) for determining the molecular profile (fingerprinting).

**Keywords:** Pampa Austral. Nematodes. Tillage systems. Diversity index.

## ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1.** Precipitações mensais (mm) registradas no pampa austral (Balcarce, BA) nos anos 2006 e 2007, e mediana das precipitações mensais dos últimos 20 anos.....10
- Tabela 2.** Gêneros de nematóides encontrados em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), no outono de 2006, e classificados de acordo a sua forma da alimentação.14
- Tabela 3.** Abundância média dos nematóides ( $\times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>), no solo do Pampa Austral (Argentina) sob distintos sistemas de cultivo. (outono 2006) ..... 15
- Tabela 4.** Índices ecológicos das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), outono de 2006. .... 17
- Tabela 5.** Probabilidades para os índices de diversidade de Shannon ( $H'$ ), Simpson (Ds), Equitatividade ( $J'$ ) e para a Riqueza (S), Densidade (d) e para as relações micófagos/(micófagos+bacteriófagos)  $(m/(m+b))$  e  $(micófagos+bacteriófagos)/fitoparasitas ((m+b)/fp)$  no outono de 2006, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, plantio convencional 1, plantio convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120))...... 18
- Tabela 6.** Gêneros de nematóides encontrados em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), no inverno de 2006, e classificados de acordo com sua forma de alimentação..... 19
- Tabela 7.** Abundancia média dos nematóides do solo ( $\times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>), no solo do Pampa Austral (Argentina) sob distintos sistemas de cultivo. (inverno 2006). .....21
- Tabela 8.** Índices ecológicos das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), para o inverno de 2006. .... 23
- Tabela 9.** Probabilidades para os índices de diversidade de Shannon ( $H'$ ), Simpson (Ds), Equitatividade ( $J'$ ) e para a Riqueza (S), Densidade (d) e para as relações micófagos/(micófagos+bacteriófagos)  $(m/(m+b))$  e  $(micófagos+bacteriófagos)/fitoparasitas ((m+b)/fp)$  no inverno de 2006, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, cultivo convencional 1, cultivo convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120))......24
- Tabela 10.** Gêneros de nematóides encontrados em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), no verão de 2007, e classificados de acordo com sua forma de alimentação. .... 26
- Tabela 11.** Abundancia média dos nematóides do solo ( $\times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>), no solo do Pampa Austral (Argentina) sob distintos sistemas de cultivo (verão 2007). .... 27
- Tabela 12.** Índices ecológicos das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), para o verão de 2007..... 29
- Tabela 13.** Probabilidades para os índices de diversidade de Shannon ( $H'$ ), Simpson (Ds), Equitatividade ( $J'$ ), Riqueza (S), Densidade (d) e para as relações micófagos/(micófagos+bacteriófagos)  $(m/(m+b))$  e  $(micófagos+bacteriófagos)/fitoparasitas ((m+b)/fp)$  no verão de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio

direto 2, plantio convencional 1, plantio convencional 2; e fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).....	30
<b>Tabela 14.</b> Gêneros de nematóides encontrados em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), na primavera de 2007, e classificados de acordo com sua forma de alimentação.....	33
<b>Tabela 15.</b> Abundancia média dos nematóides do solo ( $\times 10^5$ indivíduos/m <sup>2</sup> ), no solo do Pampa Austral (Argentina) sob distintos sistemas de cultivo. (primavera 2007). .....	35
<b>Tabela 16.</b> Índices ecológicos das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), para a primavera de 2007.....	37
<b>Tabela 17.</b> Probabilidades para os índices de diversidade de Shannon ( $H'$ ), Simpson (Ds), Equitatividade ( $J'$ ), Riqueza (S), Densidade (d) e para as relações micófagos/(micófagos+bacteriófagos) ( $m/(m+b)$ ) e (micófagos+bacteriófagos)/fitoparasitas ( $((m+b)/fp)$ ) na primavera de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, cultivo convencional 1, cultivo convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)). .....	38
<b>Tabela 18.</b> Índices de maturidade das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa austral (Balcarce, Argentina), para outono de 2006.....	52
<b>Tabela 19.</b> Probabilidades para os índices de Enriquecimento (IE), Estrutura (IS) e Canal (C) no outono de 2006, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).....	52
<b>Tabela 20.</b> Índices de maturidade das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa austral (Balcarce, Argentina), para o inverno de 2006.....	55
<b>Tabela 21.</b> Probabilidades para os índices de perturbação: de Yeates (mIM), de Bongers (IM), de enriquecimento (IM2-5), de parasitas de plantas (IPP) no inverno de 2006, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)). .....	56
<b>Tabela 22.</b> Probabilidades para os índices de Enriquecimento (IE), Estrutura (IS) e Canal (C) no inverno de 2006, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).....	57
<b>Tabela 23.</b> Índices ecológicos médios das comunidades de nematóides e índices de perturbação nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa austral (Balcarce, Argentina), para o verão de 2007. ....	60
<b>Tabela 24.</b> Probabilidades para os índices de perturbação: de Yeates (mIM), de Bongers (IM), de enriquecimento (IM 2-5), de parasitas de plantas (IPP) no verão de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).....	61
<b>Tabela 25.</b> Probabilidades para os índices de Enriquecimento (IE), Estrutura (IS) e Canal (C) no verão de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).....	63

<b>Tabela 26.</b> Índices médios de perturbação nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa austral (Balcarce, Argentina), para a primavera de 2007. ....	66
<b>Tabela 27.</b> Probabilidades para os índices de perturbação: de Yeates (mIM), de Bongers (IM), de enriquecimento (IM 2-5), de parasitas de plantas (IPP) na primavera de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)). ....	67
<b>Tabela 28.</b> Probabilidades para os índices de Enriquecimento (IE), Estrutura (IS) e Canal (C) na primavera de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).....	70
<b>Tabela 29.</b> Valores médios dos índices de diversidade em todas as épocas de amostragens e para todas as combinações de enzimas de restrição e primers utilizados em um solo do Pampa austral da Argentina.....	90

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização do sítio do experimento na cidade de Balcarce, Província de Buenos Aires e das serras setentrionais bonaerense (Tandilia).....9
- Figura 2.** Índice de diversidade ( $H'$ ), no outono de 2006 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ). ..... 18
- Figura 3.** Relação micófagos/micófagos+bacteriófagos (m/m+b), no inverno de 2006 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ). ..... 24
- Figura 4.** Índice de diversidade ( $H'$ ), no verão de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ). ..... 30
- Figura 5.** Índice de dominância (Ds), no verão de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ). ..... 31
- Figura 6.** Riqueza (S), no verão de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ). ..... 31
- Figura 7.** Densidade de nematóides, no verão de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ). ..... 32
- Figura 8.** Relação micófagos/micófagos+bacteriófagos (m/m+b), no verão de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ). ..... 32
- Figura 9.** Índice de diversidade ( $H'$ ), na primavera de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ). ..... 38

- Figura 10.** Índice de dominância (Ds), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05). .....39
- Figura 11.** Índice de equitatividade (J'), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05). .....39
- Figura 12.** Riqueza (S), na primavera de 2007 nos diferentes tratamentos para um solo do pampa austral, nas duas condições de fertilização. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05). .....40
- Figura 13.** Relação micófitos/micófitos+bacteriófitos (m/(m+b)), na primavera de 2007 nos diferentes tratamentos para um solo do Pampa Austral, nas duas condições de fertilização. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05). .....40
- Figura 14.** Relação micófitos+bacteriófitos /fitoparasitas (m+b/fp), na primavera de 2007 nos diferentes tratamentos para um solo do pampa austral. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05). .....41
- Figura 15.** Representação gráfica da condição estruturada e enriquecida da rede trófica do solo. Modificado de Ferris et al. (2001). .....50
- Figura 16.** Índice de Estrutura (IS), no outono de 2006 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. ....53
- Figura 17.** Perfil faunal para os dez tratamentos estudados no outono 2006 (notar que a escala dos eixos foram ajustadas para facilitar a comparação): Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. ....54
- Figura 18.** Índice de maturidade modificado (mIM), no inverno de 2006 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05) .....56
- Figura 19.** Índice de enriquecimento (IE), no inverno de 2006 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05) .....57

- Figura 20.** Índice Canal (IC), no inverno de 2006 para um solo do pampa austral, em função da fertilização nitrogenada. N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) .....58
- Figura 21.** Índice de enriquecimento (IE), no inverno de 2006 para um solo do pampa austral, em função da fertilização nitrogenada. N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) .....58
- Figura 22.** Perfil faunal para os dez tratamentos estudados no inverno de 2006: Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. ....59
- Figura 23.** Índice de maturidade modificado (mIM), no verão de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) .....61
- Figura 24.** Índice de maturidade (IM), no verão de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) .....62
- Figura 25.** Índice de enriquecimento (IM2-5), no verão de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) .....62
- Figura 26.** Índice de enriquecimento, no verão de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) .....63
- Figura 27.** Índice de estrutura (IS), no verão de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) .....64
- Figura 28.** Perfil faunal para os dez tratamentos estudados no verão de 2007 (notar que a escala dos eixos foram ajustados para facilitar a comparação): Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. ....65
- Figura 29.** Índice de maturidade modificado (mIM), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) .....67

- Figura 30.** Índice de enriquecimento (IM2-5), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) ..... 68
- Figura 31.** Índice de maturidade (IM), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) ..... 68
- Figura 32.** Índice de parasitas de plantas (IPP), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) ..... 69
- Figura 33.** Índice de enriquecimento (IE), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) ..... 70
- Figura 34.** Índice canal (IC), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) ..... 71
- Figura 35.** Índice de enriquecimento (IE), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos níveis de fertilização. N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) ..... 71
- Figura 36.** Índice canal (IC), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos níveis de fertilização. N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) ..... 72
- Figura 37.** Índice de estrutura (IS), nos diferentes tratamentos, na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, nas duas condições de fertilização. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ) ..... 72
- Figura 38.** Perfil faunal baseado na abundância de nematóides para os dez tratamentos (notar que a escala dos eixos foram ajustados para facilitar a comparação): Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. .... 73
- Figura 39** Gel de agarose (1 % w/v) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóides. O DNA foi amplificado usando *primers* NEMF1/S3. P= Pastagem continua de 12 anos; B1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio direto; A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2=



Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão. M= 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen).....84

**Figura 40** Gel de agarose (1 % w/v) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóides. O DNA foi amplificado usando *primers* NS1/NS4. P= Pastagem contínua de 12 anos; B1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio direto; A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão. M= 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen).....85

**Figura 41.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os primers NS1/NS4. Amplicons foram digeridos com *HaeIII* e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão. MQ? = ? X 174 DNA *Hae III* Digest (1.353 pb) (Sigma).....85

**Figura 42.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os primers NS1/NS4. Amplicons foram digeridos com *HinfI* e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão.. MQ? = ? X 174 DNA *Hae III* Digest (1.353 pb) (Sigma).....86

**Figura 43.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os *primers* NEMF1/S3. Amplicons foram digeridos com *HaeIII* e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão.. MQ? = ? X 174 DNA *Hae III* Digest (1.353 pb) (Sigma).....86

**Figura 44.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os *primers* NEMF1/S3. Amplicons foram digeridos com *HinfI* e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão.. MQ? = ? X 174 DNA *Hae III* Digest (1.353 pb) (Sigma).....87

**Figura 45.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os *primers* NEMF1/S3. Amplicons foram digeridos com a mistura (*HaeIII/HinfI* 50%/50%) e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão. MQ? = ? X 174 DNA *Hae III* Digest (1.353 pb) (Sigma).....87

**Figura 46.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os *primers* NS1/NS4. Amplicons foram digeridos com com a mistura (*HaeIII/HinfI* 50%/50%) e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1=Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão. ....88

**Figure 47.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR (2da) do rDNA do 18S de nematóide DNA da comunidade foi amplificado usando os *primers* NEMF1/S3.

Amplicons foram digeridos com a enzima *HaeIII* e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1=Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão. M= ? X 174 DNA *HaeIII* Digest (1353 bp) (Sigma). .....89

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
<b>CAPÍTULO I COMUNIDADE DE NEMATÓIDES DO SOLO: PADRÕES DE DIVERSIDADE MORFOLÓGICA</b> .....	3
<b>RESUMO</b> .....	4
<b>ABSTRACT</b> .....	5
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	6
1.1. Alimentação e Grupos Tróficos .....	6
1.2. Classificação dos Nematóides do Solo .....	7
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	9
2.1. Condições Ambientais: Precipitações.....	9
2.2. Amostragem.....	10
2.3. Análises dos Dados .....	12
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	13
3.1. Outono 2006 .....	13
3.1.1. Estrutura trófica da comunidade de nematóides .....	13
3.2. Inverno 2006.....	18
3.2.1. Estrutura trófica da comunidade de nematóides .....	18
3.3. Verão 2007.....	24
3.3.1. Estrutura trófica de comunidade de nematóides .....	24
3.4. Primavera 2007 .....	33
3.4.1. Estrutura trófica da comunidade de nematóides .....	33
<b>4. CONCLUSÕES</b> .....	42
<b>CAPÍTULO II COMUNIDADE DE NEMATÓIDES DO SOLO: BIOINDICAÇÃO EM DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO</b> .....	43
<b>RESUMO</b> .....	44
<b>ABSTRACT</b> .....	45
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	46
1.1. Atributos dos Nematóides como Bioindicadores .....	46
<b>2. MATERIAL E METODOS</b> .....	48
2.1. Amostragem.....	48
2.2. Análises dos Dados .....	50
<b>3. RESULTADOS E DISCUSÃO</b> .....	51
3.1. Outono 2006 .....	51
3.1.1. Índices de maturidade .....	51
3.1.2. Índices da rede trófica.....	51
3.1.3. Perfil faunal .....	53
3.2. Inverno 2006.....	54
3.2.1. Índices de maturidade .....	54
3.2.2. Índices da rede trófica.....	56
3.2.3. Perfil faunal .....	58
3.3. Verão 2007.....	59
3.3.1. Índices de maturidade .....	59
3.3.2. Índices da rede trófica.....	62
3.3.3. Perfil faunal .....	64
3.4. Primavera 2007 .....	65

3.4.1. Índices de maturidade .....	65
3.4.2. Índices da rede trófica.....	69
3.4.3. Perfil faunal .....	72
4. <b>CONCLUSÕES</b> .....	74
<b>CAPITULO III COMUNIDADE DE NEMATÓIDES DO SOLO: PADRÕES DE DIVERSIDADE MOLECULAR</b> .....	75
<b>RESUMO</b> .....	76
<b>ABSTRACT</b> .....	77
1. <b>INTRODUÇÃO</b> .....	78
2. <b>MATERIAL E METODOS</b> .....	80
2.1. Amostragem e Extração dos Nematóides do Solo.....	80
2.2. Extração de ADN .....	80
2.3. Avaliação da Qualidade dos Extratos de ADN.....	82
2.4. Amplificação do ADN (18S ADN ribossomal) .....	82
2.5. RFLP (Polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição) .....	82
2.6. Caracterização Molecular (PCR-RFLP) .....	82
2.7. Análises dos Dados .....	83
3. <b>RESULTADOS E DISCUSÃO</b> .....	84
3.1. Extração e Avaliação da Qualidade dos Extratos de ADN.....	84
3.2. RFLP .....	84
3.3. Índice de Diversidade .....	89
4. <b>CONCLUSÕES</b> .....	93
<b>CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	94
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	95

## INTRODUÇÃO GERAL

Em termos de biomassa e número, a fauna do solo é composta principalmente por invertebrados, desde protozoários (microscópicos) a lesmas (macroscópicos). Muitos destes organismos são aquáticos e vivem associados ao filme de água que envolve as partículas do solo. É o caso de protozoários, rotíferos, tardígrados e nematóides, que constituem a chamada microfauna do solo, cujo diâmetro corporal varia de 4  $\mu\text{m}$  a 100  $\mu\text{m}$  (SWIFT et al., 1979). Estes pequenos organismos desempenham uma importante função, através de suas interações com bactérias e fungos, atuando como reguladores da microflora do solo, e em muitos casos, podem intensificar a mineralização ou retardar a imobilização de nutrientes na biomassa microbiana. Isto dependerá da relação carbono/nitrogênio (C/N) dos resíduos vegetais, já que numa relação C/N alta (>30) pode ocorrer um esgotamento do N, em função da grande demanda de N pela microbiota, havendo, desta forma, um predomínio do processo de imobilização. No entanto, se a relação C/N do material adicionado é baixa (<20) pode ocorrer o predomínio da mineralização do N (MOREIRA & SIQUEIRA, 2002).

Os nematóides são uns dos grupos mais representativos da fauna do solo. Estima-se a sua densidade em  $2 \times 10^5$  indivíduos  $\times \text{m}^{-2}$  em solos áridos e de  $3 \times 10^7$  indivíduos  $\times \text{m}^{-2}$  em ecossistemas úmidos (CURRY & GOOD, 1992). Apresentam-se em comunidades muito diversas (> 200 espécies) com a composição refletindo textura do solo, clima, biogeografia, teor orgânico e distúrbios antrópicos e naturais (YEATES, 1984; NEHER, 2001).

As alterações da estrutura e função da rede trófica do solo pode ser uma consequência de perturbações ambientais. Porém, avaliações dessas alterações podem ser complexa para um estudo estrutural e funcional. Amostragem, extração, identificação e avaliação podem ser difíceis para algumas taxa (FERRIS et al., 2001).

É conhecido que o uso de diferentes práticas de cultivo afetam tanto a diversidade como o tamanho das populações da maior parte da biota do solo. Se tem demonstrado que as práticas de cultivo, além de alterar a disponibilidade de nutrientes do solo, exerce uma importante ação sob a população de nematóides (YEATES & HUGHES, 1990). Adoção de práticas agrícolas adequadas, como, o estabelecimento de rotação de culturas, bem como, o uso de leguminosas que contribuem efetivamente para a formação de matéria orgânica de boa qualidade, devem ser enfatizados nessa situação. Afinal, estas práticas são as determinantes da sustentabilidade de qualquer sistema produtivo (BALESDENT et al., 2000; BAYER et al., 2000; LARNEY et al., 1997; POWER & PETERSON, 1998; SALINAS-GARCIA et al., 1997).

No Pampa Austral, O uso intensivo do agroecossistema que aconteceu nas últimas décadas junto à combinação inadequada da rotação do cultivo com o sistema de plantio conduziu à degradação das propriedades do solo provocando deteriorações em alguns parâmetros do solo, como a disponibilidade dos nutrientes. Para esta região o conteúdo de N disponível diminuiu como consequência do uso intensivo do solo (GONZÁLEZ MONTANER et al., 1991), e com a degradação das propriedades físicas e químico-bioquímicas do solo (ECHEVERRÍA & FERRARI, 1993). É sabido que o sistema de plantio mais difundido na região é o convencional (PC) com a utilização da aiveca e escarificador. Porém, há um interesse crescente guiando estas práticas para manejos que contribuem para a sustentabilidade do sistema, da mesma maneira que é o uso de rotações cultivo-pastagem (R1) (STUDDERT et al., 1997) e plantio direto (PD) (STUDDERT & ECHEVERRÍA, 2000).

Dentro dos manejos, as pastagens exercem um papel muito importante nas rotações pelo fato de suas características de produção de biomassa vegetal e da distribuição das raízes no solo, garantindo a reposição de carbono orgânico e incrementando o *pool* de nutrientes

para os cultivos. Isto somado à ação física de suas raízes como também ao mantimento da cobertura total do solo, melhora significativamente as propriedades físicas e químicas alteradas durante o ciclo agrícola, reduzindo os processos de erosão e recuperando a qualidade do solo (STUDDERT et al., 1997). Por outro lado, a cobertura com palhada associada ao PD reduz as perdas de umidade pela evaporação, aumenta a infiltração e diminui a velocidade dos escorrimentos superficiais, permitindo controlar a erosão. Isto faz que, no geral, encontre-se maior conteúdo de água no solo em relação ao plantio convencional (PC) (BLEVINS & FRYE, 1993).

Assim, é necessário que se conheçam os efeitos das práticas agrícolas, em uso corrente nestes agroecossistemas, sobre a biologia do solo, além de conhecimentos adequados de sistemas de produção eficientes. Nos ecossistemas naturais, a cobertura vegetal permanente proporciona proteção contínua do solo, além de reciclarem nutrientes através dos seus resíduos, com isso mantendo ativa uma vasta diversidade de microrganismos benéficos à estabilidade do sistema e da produção agrícola. A comparação e conhecimento da cadeia trófica de nematóides nos solos naturais e daqueles sob efeitos antrópicos pode ser uma ferramenta útil para se determinar a sustentabilidade dos sistemas produtivos no pampa austral. Dessa forma este trabalho tem as seguintes hipóteses:

- A diversidade de nematóides pode integrar condições do meio ambiente refletindo o *status* e tendência do agroecossistemas.
- A comunidade de nematóides é estruturalmente diferente segundo as características dos sistemas de produção implementados.
- A rede alimentar (trófica) de nematóides do solo é modificada pelos diferentes sistemas de uso e manejo do solo nos ecossistemas.

As hipóteses conduziram ao seguinte objetivo geral:

Estudar as comunidades dos nematóides sob diferentes sistemas de uso e manejo do solo no ecossistema do Pampa Austral Argentino (Região Mar e Serras), com vista à determinação das condições da cadeia trófica dos nematóides do solo que permitam inferir sobre a qualidade de sistemas de produção agrícola.

E os objetivos particulares que seguem:

- Determinar densidade, diversidade, estrutura trófica das comunidades de nematóides, sob diferentes sistemas de manejo cultivo no Pampa Austral Argentino, Região Mar e Serras.
- Determinar o nível de perturbação, o perfil faunal e o perfil molecular das comunidades de nematóides, dos diferentes sistemas de cultivo no Pampa Austral Argentino, Região Mar e Serras.
- Determinar a qualidade dos sistemas de produção agrícolas utilizados na Região Mar e Serras do Pampa Austral Argentino.

Para tal o presente trabalho foi delineado em 3 capítulos que abarcam diferentes aspectos das comunidades de nematóides do solo e nomeados como:

Capítulo I: Comunidade de nematóides do solo: Padrões de diversidade morfológica.

Capítulo II: Comunidade de nematóides do solo: Bioindicação em diferentes sistemas de cultivo.

Capítulo III: Comunidade de nematóides do solo: Padrões de diversidade molecular.

## **CAPÍTULO I**

### **COMUNIDADE DE NEMATÓIDES DO SOLO: PADRÕES DE DIVERSIDADE MORFOLÓGICA**

## RESUMO

Neste trabalho determinou-se a diversidade da comunidade de nematóides sob dois sistemas de plantio (plantio direto e plantio convencional), com duas rotações (rotação agricultura-pastagem e rotação agricultura contínua) e duas condições de fertilização, com a dose de nitrogênio (N) de 120 kg N ha<sup>-1</sup> na forma de uréia (46-0-0) e sem N. Foram conduzidas quatro amostragens estacionais, realizou-se a extração dos nematóides do solo pelo método de flutuação-centrifugação. Determinaram-se os gêneros dos diferentes grupos tróficos presentes. Estimou-se a abundância genérica, calcularam-se os índices de diversidade de Shannon ( $H'$ ), Simpson ( $D_s$ ), equitatividade ( $J$ ) e riqueza ( $S$ ), como também as relações micófagos/(micófagos + bacteriófagos) (m/m+b) e (micófagos + bacteriófagos)/ fitoparasitas (m+b/fp). Assinalaram-se 61 gêneros de nematóides, distribuídos nas diferentes épocas assim: No outono determinaram-se 35 gêneros, no inverno 41 gêneros, no verão 50 gêneros e na primavera foram determinados 41 gêneros de nematóides. A abundância média total foi maior na primavera atingindo o valor de 31,11 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup>. Em todas as épocas de amostragem o grupo trófico dominante foi o de fitoparasitas, e os bacteriófagos, a diversidade foi maior nos tratamentos com menor intervenção antrópica, como o tratamento pastagem (Past.) e aqueles que tinham uma rotação com pastagem em algum momento de sua história agrícola, plantio direto com rotação de pastagens (PD1) e plantio convencional com rotação de pastagens (PC1). O canal de decomposição prevalente da matéria orgânica foi através das bactérias, mas foi ainda mais intensa no outono. Enquanto a herbivoria, essa não foi prevalente nas diferentes épocas de amostragens.

**Palavras-Chave:** Nematóides. Diversidade. Grupos trófico. Sistemas de plantio. Rotações



## ABSTRACT

In this study we determined the diversity of the community that was under two tillage systems (no tillage and conventional tillage), with two rotations (rotation crop-rotation grazing and agriculture-agriculture) and two conditions of fertilization, with the dose of nitrogen (N) of 120 kg N ha<sup>-1</sup> as urea (46-0-0) and without N. We estimated the genera abundance, diversity index Shannon (H'), Simpson (D), evenness (J) and richness (S), the relationships of trophic groups fungal feeders/bacterial feeders (m/b), fungal feeders / (bacterial feeders + fungal feeders) (m/m+b), and (bacterial feeders + fungal feeders)/plant parasites (m+b/fp). We determined 61 genera of nematodes, distributed at different times as well: In the fall were determined 35 genera, in winter 41 genera, 50 genera in the summer and 41 genera of nematodes in spring. The total average abundance was higher in spring, reaching a value of 31.11 x 10<sup>5</sup> individuals/m<sup>2</sup>. For all times of sampling, dominant trophic groups was plant feeders and the bacterial feeders. The diversity was higher in that treatment with lower anthropogenic intervention such as pasture treatment and those who had a rotation with pasture at some point in their history farm, no-tillage with rotation of pastures (PD1) and conventional tillage with rotation of pastures (PC1). The channel prevalent decomposition of organic matter was through the bacteria, but was even more intense in autumn. While grazing, this was not prevalent in the different sampling dates

**Keywords:** Nematodes. Diversity. Trophic group. Tillage systems. Rotations.

## 1. INTRODUÇÃO

Os nematóides fazem parte da fauna do solo que interage diretamente em ecossistemas como herbívoros em plantas e indiretamente como consumidores da microflora, regulando assim a microflora e a liberação dos nutrientes para as plantas (COLEMAN et al., 1983). Os nematóides são abundantes (+3 milhões.  $m^2$  em alguns lugares) e suas comunidades diversas (+200 espécies em alguns locais) (YEATES, 2003). Sua composição de espécies reflete o substrato, textura, clima, biogeografia, aportes orgânicos, e distúrbios naturais e antrópicos (YEATES, 1984; NEHER, 2001). Ou seja, mudanças no manejo e na cobertura do solo levarão as alterações na oferta de seus recursos, refletindo na diversidade da comunidade de nematóides (FERRIS & FERRIS, 1974; WASILEWSKA, 1989).

### 1.1. Alimentação e Grupos Tróficos

A diversidade morfológica do sistema digestivo dos nematóides reflete adaptações a distintos habitats e fontes de alimento. Sua estrutura está representada por uma abertura oral, um *estoma* (cavidade bucal), *esôfago* (faringe), *intestino* e *reto*. O estoma e o esôfago são os mais variáveis e importantes para a identificação dos grupos tróficos. O estoma varia na forma e nas estruturas cuticulares; o esôfago varia na forma e nas estruturas das válvulas e posição das glândulas (FRECKMAN & BALDWIN, 1990). Ainda segundo estes autores os nematóides ingerem o alimento pela abertura do estoma (boca) ou por meio do estilete. A cavidade do corpo tem uma alta pressão de turgidez, a qual mantém o lúmen do intestino colapsado, exceto quando está cheio de alimento. O alimento é succionado para o interior do intestino, por dilatação e contração do esôfago em contra da pressão de turgidez.

A classificação dos grupos tróficos de nematóide mais utilizada até hoje, é aquela apresentada por YEATES et al. (1993). Nesta classificação os nematóides são divididos em cinco grupos alimentares principais, que são:

A. Fitoparasitas: alimentam-se de plantas vasculares, apresentam estiletos (estomatoestilete, odontoestilete). Abrange membros da ordem Tylenchida, poucos gêneros da ordem Aphelenchida e Dorylaimida;

B. Bacteriófagos: estão incluídos aqueles que se alimentam de qualquer fonte de alimentação procariota, incluindo bactérias benéficas, saprofíticas e/ou patogênicas. Neste grupo estão incluídos membros da ordem Rhabditida são muito importantes no processo de decomposição da matéria orgânica;

C. Micófagos: este grupo de nematóides se alimenta de fungos e utilizam o estilete, que é pontiagudo, para furar as hifas. Muitos membros da ordem Aphelenchida estão neste grupo. Assim como os bacteriófagos, os micófagos também são muito importantes no processo de decomposição da matéria orgânica;

D. Predadores: caracterizam-se por se alimentarem de invertebrados, como protozoários, rotíferos, enchitraeídeos e de outros nematóides. A ordem Mononchida é exclusivamente predadora, embora poucos predadores sejam encontrados na ordem Dorylaimida;

E. Onívoros: são aqueles que se alimentam de todos os níveis tróficos da cadeia alimentar. Por exemplo, alguns nematóides podem ingerir esporos de fungos como também as bactérias do solo. O uso desse termo, no entanto, restringe-se a poucos nematóides incluídos na ordem Dorylaimida.

## 1.2. Classificação dos Nematóides do Solo

A Classificação dos nematóides do solo, aqui apresentada de acordo com MAGGENTI (1991), é a mais recente para o Filo *Nemata* (COBB, 1919). Nesta se apresentam todas as categorias aceitas, até o nível de superfamília. O Filo *Nemata* se ramifica em duas Classes, Adenophorea e Secernentea. A Classe Adenophorea engloba quase que a totalidade dos nematóides marinhos, constituindo uma fração considerável dos nematóides terrestres e dos habitantes de água doce. Contrariamente, os membros da Classe Secernentea são frequentes em ambientes terrestres e raros em ambientes marinho e de águas doce. As duas classes incluem nematóides dos cinco grupos tróficos (bacteriófagos, micófagos, fitófagos, predadores e onívoros). Em seguida, apresenta-se, de forma resumida incluindo os nematóides identificados neste trabalho, a visão de Maggenti (1991) sobre o sistema geral de classificação dos nematóides.

---

### Phylum Nemata

#### 1. Classe Adenophorea (Afasmidia)

##### A. Subclasse Enoplia

###### I. Ordem Enoplida

###### II. Ordem Mononchida

###### Superfamília Monochoidea

###### Família Mononchidae

*Mononchus*

*Clarkus*

###### Família Mylonchulidae

*Mylonchulus*

###### Família Itonchulidae

*Itonchus*

###### III. Ordem Dorylaimida

###### b. Subordem Dorylaimina

###### Superfamília Dorylaimoidea

###### Família Dorylimidae

*Dorylaimus*

###### Família Leptonchidae

*Leptonchus*

*Tylencholaimellus*

###### Família Longidoridae

*Longidorus*

*Xiphinema*

###### c. Subordem Diphterophorina

###### Família Diphterophoridae

*Diphterophora*

##### B. Subclasse Chromadoria

###### I. Ordem Chromadorida

###### II. Ordem Araeolaimida

###### a. Subordem Araeolaimina

###### Superfamília Plectoidea

###### Família Plectidae

*Plectus*

#### 2. Classe Secernentea (Fasmidia)

##### A. Subclasse Rhabditia

###### I. Ordem Rhabditida

##### b. Subordem Cephalobina

###### Família Cephalobidae

*Cephalobus*

*Eucephalobus*

*Acrobeles*

*Wilsonema*

###### Superfamília Panagrolaimoidea

###### Família Panagrolaimidae

*Panagrolaimus*

##### B. Subclasse Diplogasteria

###### I. Ordem Diplogasterida

###### II. Ordem Tylenchida

###### a. Subordem Tylenchina

###### Superfamília Tylenchoidea

###### Família Tylenchidae

*Coslenchus*

*Ditylenchus*

*Tylenchus*

###### Família Dolichodoridae

###### Família Belonolaimidae

###### Família Pratylenchidae

*Nacobbus*

*Pratylenchus*

###### Família Hoplolaimidae

*Helicotylenchus*

*Hoplolaimus*

###### Família Heteroderidae

*Heterodera*

*Meloidogyne*

###### Superfamília Criconematoidea

###### Família Criconematidae

*Criconema*

*Criconemella*

###### Família Tylenchulidae

*Tylenchulus*

---

a. Subordem Rhabditina

Superfamília Rhabditoidea

Família Rhabditidae

*Rhabditis*

*Mesorhabditis*

*Paratylenchus*

III. Ordem Aphelenchida

b. Subordem Aphelenchina

Família Aphelenchidae

*Aphelenchus*

Família Paraphelenchidae

*Paraphelenchus*

Família Aphelenchoididae

*Aphelenchoides*

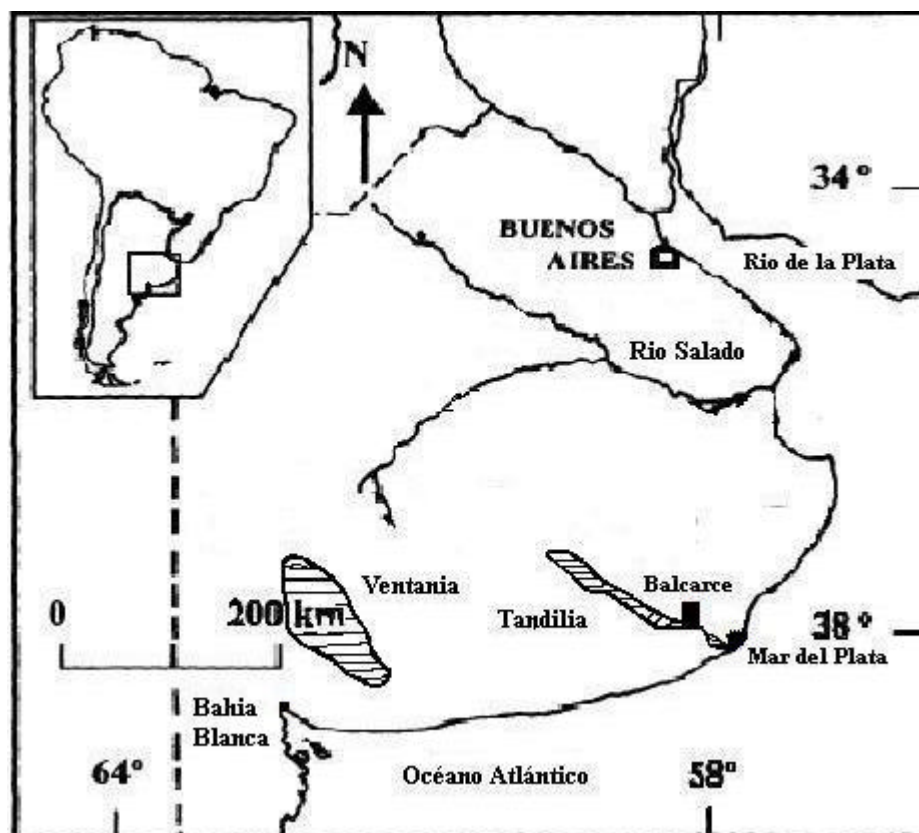
---

Os estudos sobre a diversidade dos nematóides estão baseados, principalmente, na determinação taxonômica pela observação dos caracteres morfológicos chaves para o reconhecimento dos diferentes grupos.

Tendo em vista que o uso de diferentes práticas de cultivo afetam tanto a diversidade como o tamanho das populações da maior parte da biota do solo, o objetivo neste capítulo é determinar a abundância, diversidade e estrutura trófica das comunidades de nematóides, assim mesmo os efeitos das práticas agrícolas sobre esses parâmetros, nos diferentes sistemas de cultivo utilizados no Pampa Austral Argentino, Região Mar e Serras.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos no Pampa Austral (Região Mar e Serras) em parcelas de um experimento de rotações mistas e seqüência de cultivos de longa duração (30 anos), na Unidade Integrada Balcarce (Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Mar del Plata - Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária) (UIB) Balcarce, Buenos Aires, Argentina (37° 45' S, 58° 18' O, 130 m acima do nível do mar) (Figura 1). O experimento encontra-se sobre um complexo de Argiudol típico fino, ílítico, térmico e Paleudol petrocálcico, franco, ílítico, térmico, com teores de matéria orgânica maiores que 6,2 % ( $\pm 0,3$ ) e pH 5,7 ( $\pm 0,4$ ). Esse experimento apresenta um desenho em blocos completos ao acaso com arranjo em parcelas divididas e três repetições.



**Figura 1.** Localização do sítio do experimento na cidade de Balcarce, Província de Buenos Aires e das serras setentrionais bonaerense (Tandilia).

### 2.1. Condições Ambientais: Precipitações

As precipitações em 2007 foram 40% superiores as registradas em 2006 e 30% superiores à mediana dos últimos 19 anos (histórico) (Tabela 1). Na primeira, segunda e terceira amostragem as precipitações mensais registradas foram inferiores às do histórico, na última amostragem se apresentou inversamente, com alto nível de precipitações.

**Tabela 1.** Precipitações mensais (mm) registradas no pampa austral (Balcarce, BA) nos anos 2006 e 2007, e mediana das precipitações mensais dos últimos 20 anos.

Meses	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Anual
2006	118,5	125	<b>20,8</b>	51,9	1,0	78,9	56,2	<b>11,0</b>	45,0	76,5	25,8	112,9	723,5
2007	<b>35,9</b>	122,7	211,5	238,3	26,1	33	15,5	22,4	<b>183,1</b>	86,4	48,6	26,0	1049,5
1987-2006	118,5	70,6	57,1	57,7	47,0	46,2	44,7	54,4	59,6	94,3	71,6	115,9	837,6

**Em negrito os meses das amostragens**

## 2.2. Amostragem

Nas unidades experimentais (subparcelas de 10 x 10 m) foram coletadas 6 subamostras de solo em zigue-zage. Utilizou-se um trado cilíndrico de 2,5 cm de diâmetro para coletar o solo a 0 -20 cm de profundidade. Essas seis subamostras foram misturadas para formar uma amostra composta de aproximadamente um litro de solo. As amostragens foram realizadas nas diferentes estações do ano, no outono e o inverno de 2006 e no verão e a primavera de 2007 nos seguintes tratamentos:

**Past N0:** Pastagem de 12 anos sem N.

**Past N120:** Pastagem de 12 anos com N.

**PC1 N0:** 8 anos de agricultura sob PC depois de pastagem, sem N.

**PC1 N120:** 8 anos de agricultura sob PC depois de pastagem, com N.

**PD1 N0:** 8 anos de agricultura sob PD depois de pastagem, sem N.

**PD1 N120:** 8 anos de agricultura sob PD depois de pastagem, com N.

**PC2 N0:** 30 anos de agricultura sob PC, sem N.

**PC2 N120:** 30 anos de agricultura sob PC, com N.

**PD2 N0:** 12 anos de agricultura sob PD, após 18 anos de PC, sem N.

**PD2 N120:** 12 anos de agricultura sob PD, após 18 anos de PC, com N.

Past: Pastagem; PC: Plantio convencional; PD: Plantio direto; 1: rotação agricultura-pastagem; 2: rotação agricultura contínua. O Past. (0 e 120) foi considerado testemunha por apresentar condições similares as pastagens naturais da Pampa Austral, Região Mar e Serras.

Com exceção do Past, os tratamentos são combinações de dois sistemas de manejo (PC e PD) e duas combinações de cultivos (rotação): Rotação 1 (1): rotação agricultura-pastagem (em PC1 e PD1) e Rotação 2 (2): agricultura contínua (PC2 e PD2) os que foram atribuídos à parcela principal e a dose de 120 kg N ha<sup>-1</sup>, na forma de uréia (46-0-0), e sem N o que foi atribuído à subparcela.

A experiência começou no outono de 2006 (fim de março), quando se fez a primeira amostragem sob a palhada de trigo. Na 1ª quinzena do mês de Julho de 2006 o solo foi preparado em tratamentos PC2 e PC1, utilizando a grade e escarificador (rastra de disco e

cincel).. No fim do mês de agosto se fez a amostragem de inverno de 2006. Para o início de setembro, nos tratamentos PC1 e PD1 se fez o plantio da pastagem mista (*Lolium perenne* L., *Dactylis glomerata* L., *Trifolium pratense* L. e *Trifolium repens* L.). Em outubro no tratamento PC2 foi passado o escarificador a disco e o vibra-cultivador, posteriormente nos tratamentos PC2 e PD2 se fez o cultivo do milho (Dekalb 682RR densidade de 78.500 ha<sup>-1</sup>). No mês de novembro, se aplicou Glifosato e Atrazina ao milho e herbicida na pastagem dos tratamentos PC1 e PD1. Nos tratamentos PC2 e PD2 se aplicou uréia a lanço. No mês de dezembro no tratamento Past. e nas pastagens novas (PC1 e PD1) passou-se a roçadeira. Em janeiro de 2007 se fez a terceira amostragem (verão). No início do mês de junho de 2007 se passou a roçadeira na palhada do milho dos tratamentos PC2 e PD2 e no final do mês aplicou-se fertilizante (superfosfato triplo 0-46-0) em todos os tratamentos e no mês de agosto a aiveca (arado de rejas) no tratamento PC2. No fim do mês de setembro de 2007 se fez a última amostragem (primavera). Durante a coleta as amostras de solo foram transferidas a sacos plásticos devidamente identificados e conservadas no interior de recipiente de isopor. Ao término das coletas, em cada época, as amostras foram imediatamente levadas ao laboratório de Nematologia da Estação Experimental de Balcarce (INTA) para processamento e extração dos nematóides.

Para extração dos nematóides do solo, foi implementado o método de flutuação-centrifugação como descrito por CAVENESS & JENSEN, (1955). Basicamente, 100g de solo são passados em duas peneiras sobrepostas, uma com malha de 60 Mesh (250 µm) e outra de 500 Mesh (25 µm). O material retido em cada peneira foi suspenso em água, e centrifugados por 7 min a 3000 rpm (1800 g). O material precipitado na centrifugação foi resuspenso em solução de sacarose de densidade 1,18 g.cm<sup>-3</sup> e centrifugado novamente por 5 min a 3000 rpm (1800 g). Finalmente, o sobrenadante foi passado em peneira (500 Mesh) e o que foi retido foi armazenado em água (recipientes de 25 mL). Dos recipientes contendo nematóides foi tomada uma alíquota e colocada em microtubos de 1,5 µL contendo álcool 70% e foram depositados em freezer a -20 °C. Os recipientes originais (25 mL), contendo os nematóides restantes, foram conservados em fixador de Golden. As lâminas para identificação dos nematóides foram processadas em condições controladas, em estufa a 45°C, utilizando-se a solução Seinhorst I e II, como descritas por SEINHORST (1959).

A identificação dos nematóides foi feita por observação das lâminas em microscópio óptico, a 1000 X chegando-se até a categoria de gênero, utilizando-se a literatura sobre o tema (JAIRAJPURI & AHMAD, 1992; GOODEY, 1963; FORTUNER et al., 1988; HEYNS, 1971; SIDDIQUI, 1985, CHAVES et al., 1995).

A partir dos taxa determinados em cada uma das amostras, foram calculados os seguintes parâmetros e índices:

- a) Abundância (número de indivíduos/100 mL de solo) e o número de indivíduos/m<sup>2</sup>
- b) Estrutura trófica, conforme descrito por YEATES et al. (1993).
- c) relações de grupos tróficos micófagos/bacteriófagos (m/b), micófagos/micófagos+bacteriófagos (m/m+b) e micófagos+bacteriófagos/fitoparasitas (m+b/fp) segundo GOMES et al. (2003).
- d) Índice de diversidade de Shannon (*H'*).
- e) Índice Diversidade de Simpson (*Ds*).
- f) Índice de equitatividade (*J'*), conforme descrito por PIELOU (1977).
- g) Riqueza (*S*) (número de taxas).

### **2.3. Análises dos Dados**

Os resultados foram analisados utilizando o programa ANOVA do pacote estatístico *Statistical Analysis Systems* (SAS, 1988). Para a análise estatística a variável amostragem foi considerada independente. Portanto os resultados foram analisados para cada época de amostragem. A variável densidade de nematóides foi transformada pela equação  $\ln(X + 1)$ . Utilizou-se o teste de Diferença Mínima Significativa (*Least Significant Difference* LSD) para comparar médias entre tratamentos ( $P < 0,05$ ).



### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Outono 2006

##### 3.1.1. Estrutura trófica da comunidade de nematóides

Determinou-se 35 gêneros de nematóides, os quais foram classificados em quatro grupos tróficos: fitófagos, bacteriófagos, micófagos e onívoro-predador (Tabela 2). Observou-se uma riqueza maior no grupo dos bacteriófagos, apresentando 13 gêneros, enquanto os fitófagos apresentaram 8 gêneros e os grupos de onívoro-predador e micófagos apresentaram 7 gêneros.

A distribuição total dos grupos tróficos mostrou uma maior presença de fitófagos (56,6%) e bacteriófagos (33,3%) e em muita menor presença dos micófagos (4,8%) e onívoro-predador (5,6%).

A densidade média total de nematóides variou entre 2,67 e  $18,58 \times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup> (Tabela 3). Dos tratamentos, o Past N0 apresentou a maior densidade de nematóides com  $18,58 \times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>. Apresentando também, a maior densidade de nematóides fitófagos ( $11,31 \times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>), bacteriófagos ( $5,81 \times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>) e onívoro-predador ( $1,15 \times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>) (Tabela 3). A maior abundância total de nematóides, em tratamentos sob sistemas convencionais em relação aos conservacionistas, refletem diferenças que poderiam se associar a maior atividade agrícola nesse sistemas (FRECKMAN & ETTEMA, 1993). Por outro lado a grande abundância no tratamento Past N0, pode estar associada às condições de umidade do solo e com as raízes das pastagens, que permitiram o suporte da grande abundância de fitonematóides, a qual representou o 61% da abundância total.

Dos nematóides fitoparasitas, *Helicotylenchus* spp., *Pratylenchus* sp., *Tylenchus* sp. e *Psilenchus* sp. se apresentaram em todos os tratamentos. A maior abundância do gênero *Helicotylenchus* spp. foi no Past. enquanto *Psilenchus* apresentou-se com maior abundância nos tratamentos com sistema de plantio convencional (PC1 e PC2) (Tabela 3).

Em relação aos nematóides bacteriófagos, a família Rhabditidae representada pelos gêneros *Rhabditis* sp., *Mesorhabditis* sp. e *Cruznema* sp. foram encontrados em todos os tratamentos, sendo *Rhabditis* sp. o gênero. dominante. Também se apresentaram nematóides da família Cephalobidae (*Acrobeloides* sp., *Seleborca* sp., *Cephalobus* sp., *Eucephalobus* sp., e *Chiloplacus* sp.), que tiveram menor densidade populacional mas, apresentam maior riqueza (5 gêneros).

**Tabela 2.** Gêneros de nematóides encontrados em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), no outono de 2006, e classificados de acordo a sua forma da alimentação.

<b>Fitófagos</b>	<b>Bacteriófagos</b>	<b>Micófagos</b>	<b>Onívoros-Predadores</b>
<i>Coslenchus</i>	<i>Acrobeloides</i>	<i>Aphelenchoides</i>	<i>Butlerius</i>
<i>Helicotylenchus</i>	<i>Alaimus</i>	<i>Aphelenchus</i>	<i>Clarkus</i>
<i>Hoplolaimus</i>	<i>Anaplectus</i>	<i>Diptherophora</i>	<i>Dorylaimus</i>
<i>Meloidogyne</i>	<i>Cephalobus</i>	<i>Ditylenchus</i>	<i>Dorylaimido s.l.</i>
<i>Pratylenchus</i>	<i>Chiloplacus</i>	<i>Paraphelenchus</i>	<i>Eudorylaimus</i>
<i>Psilenchus</i>	<i>Cruznema</i>	<i>Tylencholaimellus</i>	<i>Labronema</i>
<i>Rotylenchus</i>	<i>Eucephalobus</i>	<i>Tylencholaimus</i>	<i>Mononchus</i>
<i>Tylenchus</i>	<i>Mesorhabditis</i>		
	<i>Panagrolaimus</i>		
	<i>Plectus</i>		
	<i>Prismatolaimus</i>		
	<i>Rhabditis</i>		
	<i>Seleborca</i>		

Segundo PORAZINSKA et al. (1999), os nematóides pertencentes à família Rhabditidae, são estritos colonizadores e parecem ser influenciados predominantemente por repentinos aumentos nas fontes de alimento. Nematóides do gênero *Cephalobus* (Cephalobidae), no entanto caracterizados como não tão fortes colonizadores, responderiam melhor à combinação de fatores como abundância e tipos de alimento, matéria orgânica no solo, temperatura, umidade e características naturais do solo. Sendo isto uma provável explicação às diferenças de densidade e riqueza entre as famílias indicadas.

Os nematóides micófagos e onívoros-predadores se apresentaram com elevada riqueza (7 gêneros). No caso dos micófagos os gêneros mais abundantes foram *Aphelenchus* sp., *Paraphelenchus* sp. e *Aphelenchoides* sp. e para os onívoros-predadores os mais abundantes foram *Dorylaimus* sp. e *Eudorylaimus* sp. De acordo com MATTOS (2002), a diversidade é maior nos sistemas nativos que nos sistemas cultivados e, segundo NEHER & CAMPBELL (1994), embora nematóides fitoparasitas e bacteriófagos sejam mais abundantes que predadores e onívoros em solos cultivados com culturas anuais, pastos e culturas perenes, há maior abundância de onívoros e predadores em culturas perenes do que em anuais.

NEHER & CAMPBELL (1994) citam que a rede alimentar em solos agrícolas cultivados é tipicamente fundamentada mais em bactérias que em fungos e a razão entre nematóides micófagos e bacteriófagos pode ser uma importante descrição da via de decomposição na rede alimentar. No presente período de estudo (outono), a razão m/b foi de (0,14). O valor da razão demonstra que o canal prevalente de decomposição da matéria orgânica, nestas condições, está fundamentada principalmente na ação de bactérias, refletindo abundantes populações de bactérias e alta taxa de mineralização (FRECKMAN & ETTEMA, 1993) e ciclagem de nutrientes (NEHER et al., 2005). Este valor foi maior do que estimado para culturas anuais (0,11) no trabalho de NEHER & CAMPBELL (1994) e maior também do que o encontrado por GOMES et al. (2003) em plantações de soja (*Glycine max* L.) no Distrito Federal (0,10). Por outro lado foi menor que os encontrados por VILLENAVE et al. (2001) em áreas de cultivo de milho (*Pennisetum glaucum* L.) (0,72). Enquanto o valor médio da relação m/(m + b) apresentou o valor de 0,12 confirmando o domínio das bactérias na decomposição da matéria orgânica. Por outro lado, a análise baseada na relação (m+b)/fp o valor determinado (0,66) indica que a herbivoria é um canal prevalente ao processo de decomposição da matéria orgânica nestas condições.

**Tabela 3.** Abundância média dos nematóides ( $\times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>), no solo do Pampa Austral (Argentina) sob distintos sistemas de cultivo. (outono 2006)

Grupo Trófico	Familia	Gênero	PC1 N0	PC1 N120	PC2 N0	PC2 N120	Past N0	Past. N 120	PD1 N0	PD1 N120	PD2 N0	PD2 N120	
<b>Fitoparasitas</b>	Heteroderidae	<i>Meloidogyne</i>						0,03	0,09			0,03	
	Hoplolaimidae	<i>Helicotylenchus</i>	0,37	0,40	0,37	0,24	3,11	0,24	0,31	0,34	0,45	0,25	
		<i>Hoplolaimus</i>	0,26	0,12			0,16	0,11	0,23	0,17		0,07	
		<i>Rotylenchus</i>						0,08		0,03			
	Pratylenchidae	<i>Pratylenchus</i>	0,08	0,13	0,24	0,18	2,11	0,28	0,20	0,28	0,15	0,13	
		Tylenchidae	<i>Coslenchus</i>				0,01	2,16	0,18				
			<i>Psilenchus</i>	1,70	2,70	2,30	2,30	1,83	0,30	0,33	0,30	0,08	0,18
		<i>Tylenchus</i>	0,37	0,24	0,08	0,23	1,94	0,32	0,33	0,30	0,22	0,22	
Total		<b>29,76</b>	2,78	3,59	2,89	2,96	11,31	1,54	1,49	1,42	0,90	0,88	
<b>Bacteriófagos</b>	Rhabditidae	<i>Cruzema</i>	0,07	0,22	0,23	0,18	0,83	0,13	0,22	0,38	0,30	0,47	
		<i>Rhabditis</i>	0,24	0,32	0,74	0,47	2,11	0,21	0,32	0,43	0,27	0,57	
		<i>Mesorhabditis</i>	0,34	0,08	0,10	0,23	1,33	0,16	0,31	0,26	0,43	0,36	
	Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus</i>		0,02				0,03	0,02	0,03	0,21		
	Plectidae	<i>Anaplectus</i>								0,10			
		<i>Plectus</i>							0,01	0,03			
	Cephalobidae	<i>Acrobelloides</i>	0,04		0,02	0,08			0,11		0,03		
		<i>Cephalobus</i>	0,15	0,11	0,07	0,20	0,28	0,12		0,02			0,01
		<i>Chiloplacus</i>	0,15	0,05			0,16		0,12				0,15
		<i>Eucephalobus</i>	0,15	0,11	0,07	0,20	0,38	0,16	0,20	0,20		0,27	0,07
		<i>Seleborca</i>				0,14	0,72	0,03	0,12			0,07	
	Prismatolaimidae	<i>Prismatolaimus</i>			0,01								
	Alaimidae	<i>Alaimus</i>								0,01			
	Total		<b>17,32</b>	1,14	0,91	1,24	1,50	5,81	0,96	1,46	1,14	1,55	1,61
	<b>Micófagos</b>	Anguinidae	<i>Ditylenchus</i>				0,02				0,04		
Aphelenchidae		<i>Aphelenchus</i>	0,15		0,09	0,06	0,09	0,12	0,15	0,22		0,06	
Aphelenchoididae		<i>Aphelenchoides</i>	0,12	0,08	0,06	0,09	0,22	0,02	0,01	0,03		0,08	
Diphtherophoridae		<i>Diphtherophora</i>								0,05			
Paraphelenchidae		<i>Paraphelenchus</i>	0,10	0,02	0,03	0,06		0,08	0,15	0,08		0,06	
Tylencholaimellidae		<i>Tylencholaimellus</i>						0,05		0,08			
Tylencholaimidae		<i>Tylencholaimus</i>						0,04		0,04			
Total Micófagos		<b>2,55</b>	0,37	0,10	0,20	0,21	0,31	0,31	0,31	0,54	0,00	0,20	
<b>Onívoros</b>	Dorylaimidae	<i>Dorylaimus</i>	0,07	0,03	0,01		0,38	0,15	0,10	0,07	0,05	0,09	
<b>Predadores</b>		<i>Eudorylaimus</i>	0,04	0,01	0,01		0,39	0,12	0,09	0,07	0,04	0,07	
		<i>Labronema</i>		0,02			0,22	0,05				0,01	

Continuação Tabela 3

	Diplogasteridae	Dorilaimido .s. lat.	0,03				0,16	0,03	0,12		0,02	0,02
	Mononchidae	<i>Butlerius</i>		0,13							0,11	0,05
		<i>Clarkus</i>										0,13
		<i>Mononchus</i>						0,02		0,07		
Total		<b>2,98</b>	0,14	0,06	0,15	0,00	1,15	0,37	0,31	0,21	0,22	0,37
Omni/Predador												
<b>Totais Grupos</b>		<b>52,61</b>	4,43	4,66	4,48	4,67	18,58	3,18	3,57	3,31	2,67	3,06

Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização.

Na Tabela 4 são apresentados os índices de diversidade da comunidade de nematóides. Dos tratamentos, a pastagem fertilizada (Past N120) apresentou o maior valor de  $H'$ , indicando a presença de gêneros “raros”. Esta área apresentou também o menor valor de  $D_s$ , elevado valor da  $J'$ , e finalmente o maior número de gêneros determinados, (S). O tratamento PD1 N0 (plantio direto com rotação com pastagem não fertilizada) apresentou um comportamento similar ao tratamento Past N120 (Tabela 4).

**Tabela 4.** Índices ecológicos das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), outono de 2006.

Tratamentos	Índices			
	$H'$	$D_s$	$J'$	S
Past N0	2,58	0,09	0,88	19
Past N120	3,03	0,06	0,92	27
PC1 N0	2,59	0,09	0,93	16
PC1 N120	2,46	0,11	0,87	17
PD1 N0	2,90	0,06	0,92	23
PD1 N120	2,73	0,08	0,87	23
PC2 N0	2,27	0,15	0,78	18
PC2 N120	2,51	0,10	0,93	15
PD2 N0	2,39	0,11	0,90	14
PD2 N120	2,65	0,09	0,86	22

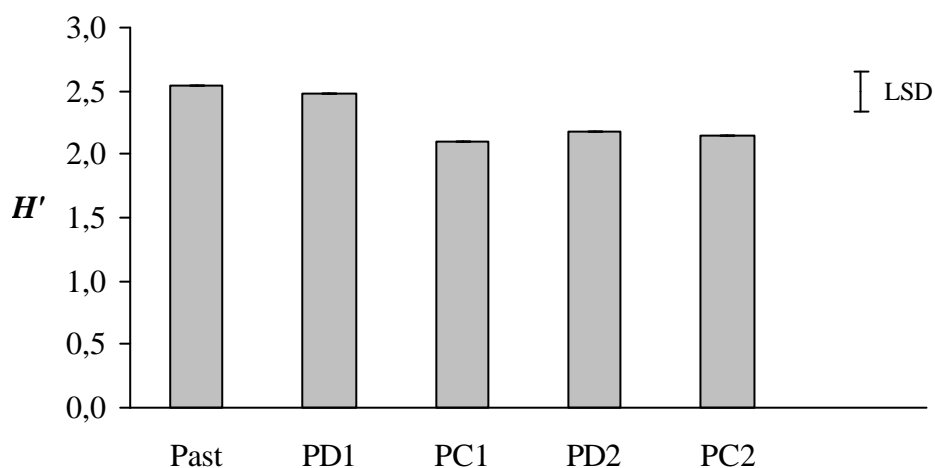
$H'$ : Índice de diversidade de Shannon;  $D_s$ : Índice Diversidade de Simpson;  $J'$ :Índice de Eqüitatividade; S: Riqueza (N° de taxa). Past= pastagem; PD1= plantio direto–rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização.

No outono o índice  $H'$  foi afetado significativamente pelos sistemas de plantio, mas não pela fertilização e também não pela interação entre esses fatores (Tabela 5). Pode-se perceber que os sistemas Past e PD1 apresentaram o valor maior no índice (Figura 2). A análise estatística corroborou os dados de diversidade obtidos ( $H'$  e S), onde os tratamentos com manejos conservacionistas como o PD, onde a cobertura com palha reduz a perda de umidade, com um maior conteúdo de água no solo (BIEVINS & FRYE 1993), apresentaram os maiores valores para estes índices, indicativo de comunidades equilibradas, com ausência de gêneros dominantes e com uma distribuição compensada do número de nematóides nos diferentes gêneros presentes.

**Tabela 5.** Probabilidades para os índices de diversidade de Shannon ( $H'$ ), Simpson ( $D_s$ ), Equitatividade ( $J'$ ) e para a Riqueza ( $S$ ), Densidade ( $d$ ) e para as relações micófagos/(micófagos+bacteriófagos) ( $m/(m+b)$ ) e ((micófagos+bacteriófagos)/fitoparasitas) ( $(m+b)/fp$ ) no outono de 2006, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, plantio convencional 1, plantio convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).

Fontes de variação	Probabilidades						
	$H'$	$D_s$	$J'$	$S$	$d$	$m/m+b$	$m+b/fp$
Sistema de Plantio	<b>0,026</b>	0,056	0,664	0,102	0,336	0,301	0,234
Fertilização	0,153	0,403	0,879	0,188	0,826	0,593	0,947
Sistema x Fertilização	0,146	0,110	0,300	0,209	0,883	0,369	0,832

Em negrita destacam-se os efeitos puros significativos ( $P = 0,05$ )



**Figura 2.** Índice de diversidade ( $H'$ ), no outono de 2006 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0,05$ ).

### 3.2. Inverno 2006

#### 3.2.1. Estrutura trófica da comunidade de nematóides

Determinaram-se neste período, 41 gêneros de nematóides, os quais foram classificados em quatro grupos tróficos: fitófagos, bacteriófagos, micófagos e onívoro-predadores (Tabela 6), observou-se uma riqueza maior no grupo dos bacteriófagos, apresentando 14 gêneros, enquanto os fitófagos apresentaram 10 gêneros e os grupos de onívoro-predadores e os micófagos apresentaram 9 e 8 gêneros respectivamente.

**Tabela 6.** Gêneros de nematóides encontrados em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), no inverno de 2006, e classificados de acordo com sua forma de alimentação.

<b>Fitoparasitas</b>	<b>Bacteriófagos</b>	<b>Micófagos</b>	<b>Onívoros-Predadores</b>
<i>Coslenchus</i>	<i>Acrobeloides</i>	<i>Aphelenchoides</i>	<i>Clarkus</i>
<i>Helicotylenchus</i>	<i>Alaimus</i>	<i>Aphelenchus</i>	<i>Chiloplacus</i>
<i>Hoplolaimus</i>	<i>Amphidelus</i>	<i>Diphtherophora</i>	<i>Discolaimium</i>
<i>Meloidogyne</i>	<i>Anaplectus</i>	<i>Ditylenchus</i>	<i>Discolaimus</i>
<i>Pratylenchus</i>	<i>Butlerius</i>	<i>Leptonchus</i>	<i>Dorylaimus</i>
<i>Psilenchus</i>	<i>Cephalobus</i>	<i>Paraphelenchus</i>	<i>Dorylaimido s.l.</i>
<i>Rotylenchus</i>	<i>Cruznema</i>	<i>Tylencholaimellus</i>	<i>Eudorylaimus</i>
<i>Tylenchus</i>	<i>Eucephalobus</i>	<i>Tylencholaimus</i>	<i>Labronema</i>
<i>Tylenchorynchus</i>	<i>Mesorhabditis</i>		<i>Mylonchulus</i>
<i>Xiphidorus</i>	<i>Panagrolaimus</i>		
	<i>Plectus</i>		
	<i>Prismatolaimus</i>		
	<i>Rhabditis</i>		
	<i>Seleborca</i>		

A distribuição total dos distintos grupos tróficos na amostragem de inverno apresentou-se assim: fitófagos (52,1%), bacteriófagos (28,3%), micófagos (10%) e onívoros - predadores (8,8%).

A densidade média total de nematóides variou entre 0,63 e 1,07 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup> nos diferentes tratamentos (Tabela 7). O tratamento, Past N120 apresentou a maior densidade de nematóides com 1,07 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup>. Apresentou também, a maior densidade de nematóides fitoparasitas (0,61 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup>). Os restantes grupos apresentaram-se com sua maior densidade nos seguintes tratamentos, bacteriófagos no tratamento PC1 N0 (0,48 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup>), micófagos no PD1 N0 (0,13 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup>) e onívoro-predadores no Past. N 120 (0,17 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup>) (Tabela 7). Em relação ao outono (amostragem anterior), apresentou-se uma notável diferença na densidade média total de nematóides, coincidente com a época de amostragem, como também as atividades de preparo do solo em alguns tratamentos. Em relação ao preparo do solo, este exerce uma importante ação sob a população de nematóides (YEATES & HUGHES, 1990), No presente trabalho aconteceu uma diminuição nas densidades de todos os grupos tróficos, com a exceção dos bacteriófagos, nos tratamentos sob sistemas convencionais de manejo. Contudo, em geral a proporção de grupos tróficos, foi similar no outono, ainda com aumentos no grupo de micófagos e onívoros-predadores.

NEHER & CAMPBELL (1994) citam que a cadeia alimentar em solos agrícolas cultivados é tipicamente fundamentada mais em bactérias que em fungos e a razão entre nematóides micófagos e bacteriófagos pode ser uma importante descrição da via de decomposição na cadeia alimentar. No período de estudo (inverno), a razão entre micófagos e bacteriófagos foi de 0,35 sendo este valor maior do que foi calculado para a amostragem de outono e para as culturas anuais (0,11) por NEHER & CAMPBELL (1994). O valor da razão entre micófagos e bacteriófagos m/b e (m+b)/b (0,28), no inverno, confirma que a via de decomposição da matéria orgânica está fundamentada na ação de bactérias. A relação

$(m+b)/fp = 0,73$ , ainda evidencia a herbivoria, em relação ao outono, como um canal prevalente ao processo de decomposição nestas condições.



**Tabela 7.** Abundancia média dos nematóides do solo ( $\times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>), no solo do Pampa Austral (Argentina) sob distintos sistemas de cultivo. (inverno 2006).

Grupo Trófico	Familia	Gênero	PC1 N0	PC1 N120	PC2 N0	PC2 N120	Past N0	Past. N 120	PD1 N0	PD1 N120	PD2 N0	PD2 N120
<b>Fitoparasitas</b>	Heteroderidae	<i>Meloidogyne</i>		0,007			0,007	0,007				0,01
	Hoplolaimidae	<i>Helicotylenchus</i>	0,13	0,1	0,13	0,21	0,15	0,17	0,13	0,14	0,09	0,12
		<i>Hoplolaimus</i>	0,15	0,18	0,07		0,13	0,06	0,08	0,1		
		<i>Rotylenchus</i>			0,007	0,03	0,02				0,03	0,02
	Pratylenchidae	<i>Pratylenchus</i>	0,04	0,04	0,02	0,03	0,05	0,05	0,02	0,13	0,04	0,06
	Tylenchidae	<i>Coslenchus</i>		0,01		0,01	0,02	0,11	0,01			
		<i>Psilenchus</i>	0,007		0,04	0,02	0,09	0,08	0,13	0,05	0,11	0,09
		<i>Tylenchus</i>	0,10	0,05	0,05	0,05	0,03	0,13	0,12	0,07	0,11	0,03
	Longidoridae	<i>Xiphidorus</i>										0,007
	Belonolaimidae	<i>Tylenchorhynchus</i>									0,007	0,007
	Trichodoridae	<i>Trichodorus</i>						0,007				
Belondiridae	<i>Dorylaimellus</i>						0,007					
<b>Total</b>		<b>4,29</b>	0,43	0,39	0,31	0,35	0,5	0,61	0,49	0,48	0,37	0,34
<b>Bacteriófagos</b>	Rhabditidae	<i>Cruznema</i>	0,07	0,03	0,05	0,06	0,007		0,04	0,04	0,15	0
		<i>Rhabditis</i>	0,2	0,21	0,15	0,15	0,007	0,05	0,01	0,007	0,03	0,03
		<i>Mesorhabditis</i>	0,07	0,04	0,01	0,02		0,007	0,007	0,05	0,04	0,03
	Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus</i>	0,03	0,02	0,02							0,02
	Plectidae	<i>Plectus</i>	0,04	0,03	0,007						0,05	
	Cephalobidae	<i>Acrobeloides</i>		0,007		0,007		0,02		0,02	0,007	
		<i>Cephalobus</i>										0,007
		<i>Chiloplacus</i>	0,01									
		<i>Eucephalobus</i>	0,05			0,02		0,02		0,007	0,01	0,02
		<i>Seleborca</i>	0,01	0,03		0,01	0,03	0,07	0,03	0,01	0,01	0,03
	Prismatolaimidae	<i>Prismatolaimus</i>				0,007				0,007	0,007	
	Alaimidae	<i>Alaimus</i>	0,007				0,013			0,013	0,007	
		<i>Amphidelus</i>							0,013			
	Diplogasteridae	<i>Butlerius</i>		0,007	0,007							
	<b>Total</b>		<b>2,32</b>	0,48	0,37	0,25	0,27	0,05	0,18	0,11	0,14	0,32
<b>Micófagos</b>	Anguinidae	<i>Ditylenchus</i>	0,01		0,02		0,06		0,01	0,03	0,01	0,00
	Aphelenchidae	<i>Aphelenchus</i>		0,03	0,01		0,01	0,01	0,07	0,04	0,01	0,02
	Aphelenchoididae	<i>Aphelenchoides</i>			0,02	0,01	0,01					0,02
	Diphtherophoridae	<i>Diphtherophora</i>	0,01		0,03	0,01		0,02				0,02
	Paraphelenchidae	<i>Paraphelenchus</i>	0,01	0,03	0,03	0,01	0,01	0,01	0,03	0,03	0,01	0,01
	Tylencholaimellidae	<i>Tylencholaimellus</i>		0,01	0,01	0,01	0,02	0,05	0,03		0,01	0,01
	Tylencholaimidae	<i>Tylencholaimus</i>						0,02			0,01	0,00
	Leptonchidae	<i>Leptonchus</i>		0,01			0,01	0,01	0,03	0,03	0,02	0,01
	<b>Total Micófagos</b>		<b>0,82</b>	0,03	0,07	0,11	0,03	0,11	0,11	0,13	0,10	0,05

Continuação **Tabela 7.**

<b>Onívoros</b>	Dorylaimidae	<i>Dorylaimus</i>	0,01	0,03	0,07	0,03	0,03	0,10	0,03	0,08	0,02	0,03	
<b>Predadores</b>		<i>Eudorylaimus</i>		0,01		0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01		
		<i>Discolaimium</i>			0,01								
		<i>Discolaimus</i>				0,01	0,03						
		<i>Dorilaimido s. lat.</i>					0,01	0,03	0,01				
		<i>Labronema</i>			0,01		0,02				0,01		
		<i>Aporcelaimellus</i>						0,03					
		Carcharolaimidae	<i>Carcharolaimus</i>				0,01	0,01					
	Mononchidae	<i>Clarkus</i>		0,03	0,01				0,01	0,01		0,03	
	Mylonchulidae	<i>Mylonchulus</i>	0,01					0,02		0,07			
Total Onív/Pred			<b>0,77</b>	0,01	0,08	0,09	0,04	0,11	0,17	0,07	0,11	0,04	0,05
<b>Total Grupos</b>			<b>8,20</b>	0,95	0,91	0,76	0,70	0,76	1,07	0,81	0,83	0,78	0,63

Past= pastagem; PD1= plantio direto–rotação pastagens; PC1= plantio convencionalrotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização.

Na Tabela 8 são apresentados os índices descritores da comunidade de nematóides. Dos tratamentos, PD2 N120 e a pastagem fertilizada (Past. N120) apresentaram os maiores valores de  $H'$ , indicando a presença de gêneros “raros”, apresentando também os menores valores de dominância de Simpson ( $D_s$ ), elevado valor do índice de equitatividade ( $J'$ ), e finalmente apresentando os maiores números de gêneros determinados, a riqueza ( $S$ ). Como aconteceu no outono, aqueles tratamentos com atividades conservacionistas, como o plantio direto, foram os que maior índice de diversidade apresentaram.

**Tabela 8.** Índices ecológicos das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), para o inverno de 2006.

Tratamentos	Índices			
	$H'$	$D_s$	$J'$	$S$
Past N0	2,60	0,11	0,83	23
Past N120	2,78	0,08	0,86	25
PC1 N0	2,38	0,12	0,82	18
PC1 N120	2,55	0,12	0,81	23
PD1 N0	2,53	0,10	0,86	19
PD1 N120	2,52	0,10	0,87	18
PC2 N0	2,64	0,10	0,84	23
PC2 N120	2,34	0,15	0,78	20
PD2 N0	2,61	0,10	0,83	23
PD2 N120	2,84	0,08	0,89	24

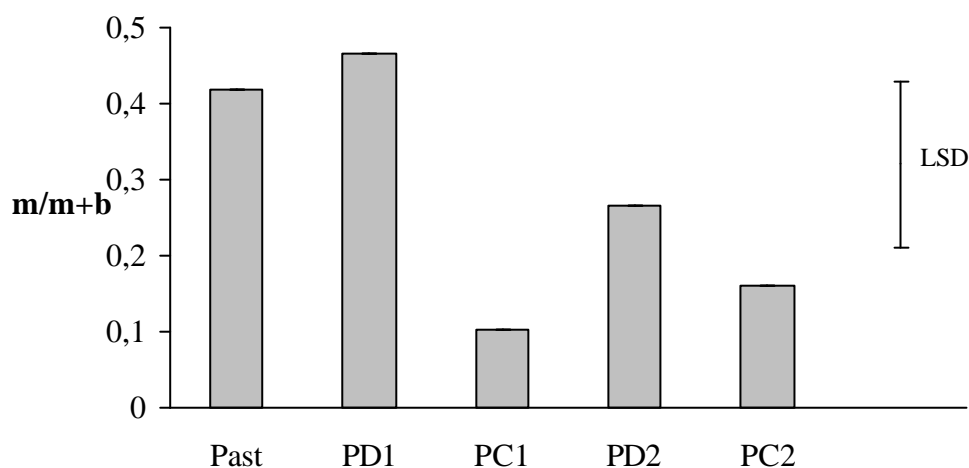
$H'$ : Índice de diversidade de Shannon;  $D_s$ : Índice Diversidade de Simpson;  $J'$ : Índice de Equitatividade;  $S$ : Riqueza (N° de taxa). Past= pastagem; PD1= plantio direto–rotação pastagens; PC1= plantio convencional–rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização.

Os parâmetros relacionados com a diversidade não foram afetados pelos sistemas de plantio e também pela fertilização. O índice indicador da via de degradação da matéria orgânica (m/m+b) foi afetado pelo sistema de plantio (Tabela 9). Pode-se perceber que o PD1 e o Past. apresentaram um maior valor para o índice do que PC1 e PC2 (Figura 3). Estes resultados refletem o impacto diferencial das atividades antrópicas sobre os grupos tróficos, nos tratamentos com manejo convencional, e também a condição dos resíduos sobre o solo naqueles tratamentos com plantio direto. Evidentemente o revolvimento do solo, disponibilizou os resíduos o que gerou um incremento nas populações de nematóides bacteriófagos (YEATES, 1999), enquanto nos tratamentos de plantio direto, para a data de amostragem, esses resíduos apresentariam alta relação C:N sendo a degradação dominada pelos fungos (WARDLES & YEATES, 1993).

**Tabela 9.** Probabilidades para os índices de diversidade de Shannon ( $H'$ ), Simpson ( $D_s$ ), Equitatividade ( $J'$ ) e para a Riqueza ( $S$ ), Densidade ( $d$ ) e para as relações micófagos/(micófagos+bacteriófagos) ( $m/(m+b)$ ) e ((micófagos+bacteriófagos)/fitoparasitas)  $((m+b)/fp)$  no inverno de 2006, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, cultivo convencional 1, cultivo convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).

Fontes de variação	Probabilidades						
	$H$	$D_s$	$J'$	$S$	$d$	$m/m+b$	$m+b/fp$
Sistema de Plantio	0,868	0,764	0,479	0,894	0,574	<b>0,009</b>	0,310
Fertilização	0,120	0,165	0,159	0,200	0,756	0,944	0,183
Sistema x Fertilização	0,416	0,394	0,241	0,713	0,779	0,399	0,566

Em negrita destacam-se os efeitos puros significativos ( $P = 0,05$ )



**Figura 3.** Relação micófagos/micófagos+bacteriófagos ( $m/m+b$ ), no inverno de 2006 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0,05$ ).

### 3.3. Verão 2007

#### 3.3.1. Estrutura trófica de comunidade de nematóides

No verão de 2007 determinaram-se 50 gêneros de nematóides, os quais foram classificados em quatro grupos tróficos: fitófagos, bacteriófagos, micófagos e onívoro-predadores observou-se uma riqueza maior no grupo dos fitófagos, apresentando 15 gêneros, os

bacteriófagos 13 gêneros, os onívoro-predadores 13 gêneros, enquanto os micófagos apresentaram só 9 gêneros. (Tabela 10).

A distribuição total dos distintos grupos tróficos no período de verão apresentou-se assim: fitoparasitas (50,5 %), bacteriófagos (24,87%), micófagos (8,65 %) e onívoros - predadores (16 %).

A densidade media total de nematóides variou entre 1,013 e  $2,16 \times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup> nos diferentes tratamentos (Tabela 11). O tratamento, Past N120 apresentou a maior densidade de nematóides com  $2,16 \times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>. Apresentando também, a maior densidade de nematóides fitoparasitas ( $1,42 \times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>), os restantes grupos apresentaram-se com sua maior densidade nos seguintes tratamentos, Bacteriófagos no tratamento PC1 N0 ( $0,68 \times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>), micófagos no Past N120 ( $0,22 \times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>) e onívoro-predadores na Past. N0 ( $0,44 \times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>) (Tabela 11). Os resultados das densidade indicariam um efeito de manejo, pelo fato das maiores densidades de nematóides bacteriófagos se apresentaram em plantio convencional (BRMEŽ, et al., 2006) e de forma inversa, as maiores densidades de nematóides micófagos e onívoros apresentaram-se nos sistemas de plantio direto (Tabela 11). Assim mesmo, um efeito de cobertura, já que os tratamentos sob plantio direto ou convencional com pastagem tiveram maior densidade de nematóides micófagos e onívoros.

NEHER & CAMPBELL (1994) citam que a cadeia alimentar em solos agrícolas cultivados é tipicamente fundamentada mais em bactérias que em fungos e a razão entre nematóides micófagos e bacteriófagos pode ser uma importante descrição da via de decomposição na cadeia alimentar. No período de estudo (verão), a razão entre micófagos e bacteriófagos foi de 0,34 sendo este valor indicativo da degradação bacteriana sendo maior do que foi calculado para a amostragem de outono (0,14) e para as culturas anuais (0,11) por NEHER & CAMPBELL (1994). O valor da razão m/b indica que a via predominante de decomposição da matéria orgânica está fundamentada principalmente na ação de bactérias, mas com uma participação maior dos fungos, embora é assim pelo fato da diminuição da densidade de bacteriófagos mas que pelo aumento dos micófagos. Quanto ao índice  $m/(m + b)$  o valor 0,25 indica degradação via bacteriana. Emquanto a relação  $(m+b)/fp = 0,66$  evidencia uma maior importância da herbivoria, isto poderia-se relacionar com o desenvolvimento do cultivo de milho e das pastagens.

**Tabela 10.** Gêneros de nematóides encontrados em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), no verão de 2007, e classificados de acordo com sua forma de alimentação.

<b>Fitoparasitas</b>	<b>Bacteriófagos</b>	<b>Micófagos</b>	<b>Onívoros-Predadores</b>
<i>Boleodorus</i>	<i>Acrobeloides</i>	<i>Aphelenchoides</i>	<i>Aporcelaimus</i>
<i>Coslenchus</i>	<i>Alaimus</i>	<i>Aphelenchus</i>	<i>Aporcelaimellus</i>
<i>Dorylaimellus</i>	<i>Anaplectus</i>	<i>Diphtherophora</i>	<i>Carcharolaimus</i>
<i>Helicotylenchus</i>	<i>Cephalobus</i>	<i>Ditylenchus</i>	<i>Clarkus</i>
<i>Hoplolaimus</i>	<i>Chiloplacus</i>	<i>Leptonchus</i>	<i>Discolaimium</i>
<i>Meloidogyne</i>	<i>Cruznama</i>	<i>Paraphelenchus</i>	<i>Discolaimus</i>
<i>Neothada</i>	<i>Eucephalobus</i>	<i>Tylencholaimellus</i>	<i>Discolaimoides</i>
<i>Paratrichodorus</i>	<i>Mesorhabditis</i>	<i>Tylencholaimus</i>	<i>Dorylaimoides</i>
<i>Peltamigratus</i>	<i>Panagrolaimus</i>	<i>Tylolaimophorus</i>	<i>Dorylaimus</i>
<i>Pratylenchus</i>	<i>Plectus</i>		<i>Dorylaimido s.l.</i>
<i>Psilenchus</i>	<i>Prismatolaimus</i>		<i>Eudorylaimus</i>
<i>Rotylenchus</i>	<i>Rhabditis</i>		<i>Labronema</i>
<i>Trichodorus</i>	<i>Seleborca</i>		<i>Nygolaimus</i>
<i>Tylenchus</i>			<i>Prodorylaimus</i>
<i>Belondira</i>			

**Tabela 11.** Abundancia média dos nematóides do solo ( $\times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>), no solo do Pampa Austral (Argentina) sob distintos sistemas de cultivo (verão 2007).

Grupo Trófico	Familia	Gênero	PC1 N0	PC1 N120	PC2 N0	PC2 N120	Past N0	Past. N 120	PD1 N0	PD1 N120	PD2 N0	PD2 N120	
<b>Fitoparasitas</b>	Heteroderidae	<i>Meloidogyne</i>	0,007	0,027			0,007	0,007				0,01	
	Hoplolaimidae	<i>Helicotylenchus</i>	0,020	0,160	0,047	0,140	0,173	0,073	0,073	0,053	0,187	0,160	
		<i>Hoplolaimus</i>	0,133	0,107			0,113	0,100	0,047	0,133			
		<i>Peltamigratus</i>			0,013	0,007	0,127	0,053	0,013		0,007	0,027	
		<i>Rotylenchus</i>	0,020	0,007				0,007		0,013			
	Pratylenchidae	<i>Pratylenchus</i>	0,180	0,140	0,080	0,087	0,113	0,053	0,053	0,100	0,073	0,120	
	Tylenchidae	<i>Coslenchus</i>				0,047		0,440	0,313	0,027		0,133	0,047
		<i>Psilenchus</i>	0,007	0,040	0,113	0,027	0,113	0,133	0,133	0,020	0,167	0,040	
		<i>Tylenchus</i>	0,100	0,127	0,193	0,280	0,193	0,133	0,087	0,153	0,153	0,113	
		<i>Boleodorus</i>								0,007			
		<i>Thada</i>						0,007					
	Trichodoridae	<i>Trichodorus</i>					0,047	0,033					
	Belonidiridae	<i>Dorylaimellus</i>		0,007	0,007		0,093	0,013					0,007
<i>Belondira</i>							0,013						
<b>Total</b>		<b>6,623</b>	0,467	0,615	0,5	0,541	1,426	0,918	0,44	0,472	0,72	0,524	
<b>Bacteriófagos</b>	Rhabditidae	<i>Cruznama</i>	0,060	0,100	0,120	0,060	0,013		0,047	0,013	0,120	0,140	
		<i>Rhabditis</i>	0,407	0,307	0,113	0,320	0,040	0,073	0,087	0,093	0,027	0,093	
		<i>Mesorhabditis</i>	0,140	0,047	0,113	0,087		0,013	0,020	0,007		0,080	
	Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus</i>	0,020	0,013				0,007	0,007	0,013	0,013	0,007	
	Plectidae	<i>Plectus</i>	0,007					0,007	0,007	0,007	0,013	0,013	
		<i>Anaplectus</i>	0,007					0,007				0,013	
	Cephalobidae	<i>Acrobeloides</i>	0,020		0,013					0,013			0,007
		<i>Cephalobus</i>				0,013							0,013
		<i>Chiloplacus</i>							0,007				
		<i>Eucephalobus</i>									0,020		
		<i>Seleborca</i>	0,007	0,007		0,020	0,033	0,040	0,013	0,013	0,027	0,060	
	Prismatolaimidae	<i>Prismatolaimus</i>								0,007			
	Alaimidae	<i>Alaimus</i>	0,013				0,013						
<b>Total</b>		<b>3,26</b>	0,681	0,474	0,359	0,5	0,099	0,154	0,194	0,173	0,2	0,426	

Continuação Tabela 11.

<b>Micófagos</b>	Anguinidae	<i>Ditylenchus</i>	0,007	0,027	0,040		0,060	0,040	0,007	0,013	0,013		
	Aphelenchidae	<i>Aphelenchus</i>	0,027	0,020	0,027		0,013	0,007	0,093	0,033	0,047	0,060	
	Aphelenchoididae	<i>Aphelenchoides</i>	0,007						0,013		0,007	0,013	
	Diphtherophoridae	<i>Diphtherophora</i>			0,020		0,013		0,007	0,007		0,027	
		<i>Tylolaimophorus</i>							0,007				
	Paraphelenchidae	<i>Paraphelenchus</i>				0,040			0,007	0,013			
	Tylencholaimellidae	<i>Tylencholaimellus</i>	0,007			0,013	0,080	0,140	0,013	0,013	0,033		
	Tylencholaimidae	<i>Tylencholaimus</i>				0,007	0,027	0,013	0,027		0,007		
Leptonchidae	<i>Leptonchus</i>	0,007						0,020	0,013				
Total			<b>1,135</b>	0,055	0,047	0,087	0,06	0,193	0,227	0,193	0,066	0,107	0,1
<b>Onívoros</b>	Dorylaimidae	<i>Dorylaimus</i>				0,007			0,007	0,013			
<b>Predadores</b>		<i>Prodorylaimus</i>				0,013							
		<i>Labronema</i>	0,033	0,007	0,007	0,013	0,127	0,053	0,053	0,100	0,027	0,027	
		<i>Eudorylaimus</i>	0,033	0,053	0,007	0,047	0,060	0,107	0,007		0,020	0,020	
		<i>Discolaimium</i>	0,020								0,007		
		<i>Discolaimus</i>	0,007	0,013			0,013	0,007	0,013	0,007	0,007		
		<i>Discolaimoides</i>						0,013					
		<i>Dorilaimido s. lat.</i>	0,020	0,007	0,007		0,027	0,007	0,020	0,040		0,033	
		<i>Dorylaimoides</i>							0,033				
		<i>Aporcelaimus</i>									0,033		
		<i>Aporcelaimellus</i>	0,053	0,027	0,013	0,007	0,200	0,207	0,107	0,167	0,040	0,020	
		Carcharolaimidae	<i>Carcharolaimus</i>								0,007		
		Mononchidae	<i>Clarkus</i>					0,013			0,007	0,007	
	Nygolaimidae	<i>Nygolaimus</i>			0,013		0,007	0,007			0,013		
Total			<b>2,09</b>	0,166	0,107	0,067	0,067	0,447	0,411	0,246	0,368	0,114	0,1
<b>Total Grupos</b>			<b>13,108</b>	<b>1,369</b>	<b>1,243</b>	<b>1,013</b>	<b>1,168</b>	<b>2,165</b>	<b>1,720</b>	<b>1,073</b>	<b>1,079</b>	<b>1,141</b>	<b>1,15</b>



Na Tabela 12 são apresentados os índices descritores da comunidade de nematóides. Dos tratamentos, PD1 N0 apresentou o maior valor de  $H'$ , indicando a presença de gêneros “raros”, apresentando também o menor valor de dominância de Simpson ( $D_s$ ), elevado valor do índice de equitatividade ( $J'$ ), e finalmente apresentando o maior número de gêneros determinados, a riqueza ( $S$ ).

**Tabela 12.** Índices ecológicos das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), para o verão de 2007.

Tratamentos	Índices			
	$H'$	$D_s$	$J'$	$S$
Past N0	2,32	0,13	0,86	15
Past N120	2,44	0,12	0,84	19
PC1 N0	2,23	0,16	0,81	16
PC1 N120	2,22	0,14	0,87	13
PD1 N0	2,64	0,08	0,92	18
PD1 N120	2,32	0,13	0,88	14
PC2 N0	2,26	0,13	0,90	13
PC2 N120	1,90	0,20	0,82	11
PD2 N0	2,28	0,15	0,84	15
PD2 N120	2,37	0,12	0,88	15

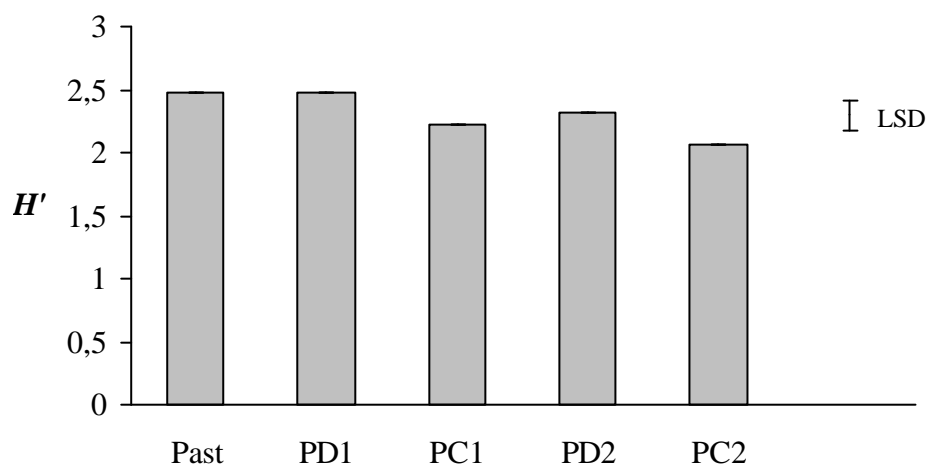
$H'$ : Índice de diversidade de Shannon;  $D_s$ : Índice Diversidade de Simpson;  $J'$ : Índice de Equitatividade;  $S$ : Riqueza ( $N^\circ$  de taxa). Past= pastagem; PD1= plantio direto–rotação pastagens; PC1= plantio convencional–rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização.

No verão o índice de diversidade, dominância, riqueza, a densidade de nematóides e a relação  $m/m+b$  foram afetados pelo sistema de plantio (Tabela 13). O  $H'$  foi maior no Past. e PD1 do que PC2 e no geral os tratamentos com manejo conservacionistas apresentaram maior diversidade (Figura 4). A dominância foi maior no tratamento PC2 do que PD1 (Figura 5). A riqueza foi maior no Past. e PD1 do que PC2 (Figura 6) e finalmente a densidade ( $d$ ) foi maior no Past. do que PC2 (Figura 7). Enquanto à relação  $m/m+b$  o Past apresentou um valor significativamente maior do que os restantes tratamentos, e o PD1 diferenciou-se dos tratamentos PC1 e PC2, apresentando um índice maior (Figura 8).

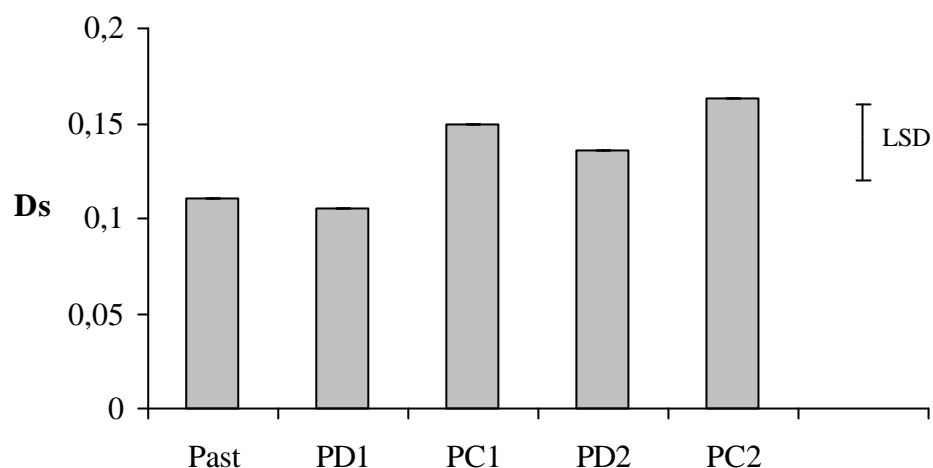
**Tabela 13.** Probabilidades para os índices de diversidade de Shannon ( $H'$ ), Simpson ( $D_s$ ), Equitatividade ( $J'$ ), Riqueza ( $S$ ), Densidade ( $d$ ) e para as relações micófitos/(micófitos+bacteriófitos) ( $m/(m+b)$ ) e ((micófitos+bacteriófitos)/fitoparasitas) ( $(m+b)/fp$ ) no verão de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, plantio convencional 1, plantio convencional 2; e fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).

Fontes de variação	Probabilidades						
	$H'$	$D_s$	$J'$	$S$	$d$	$m/m+b$	$m+b/fp$
Sistema de Plantio	<b>0,008</b>	<b>0,027</b>	0,443	<b>0,012</b>	<b>0,046</b>	<b>0,0001</b>	0,060
Fertilização	0,072	0,160	0,751	0,142	0,540	0,541	0,323
Sistema x Fertilização	0,227	0,122	0,354	0,783	0,985	0,463	0,331

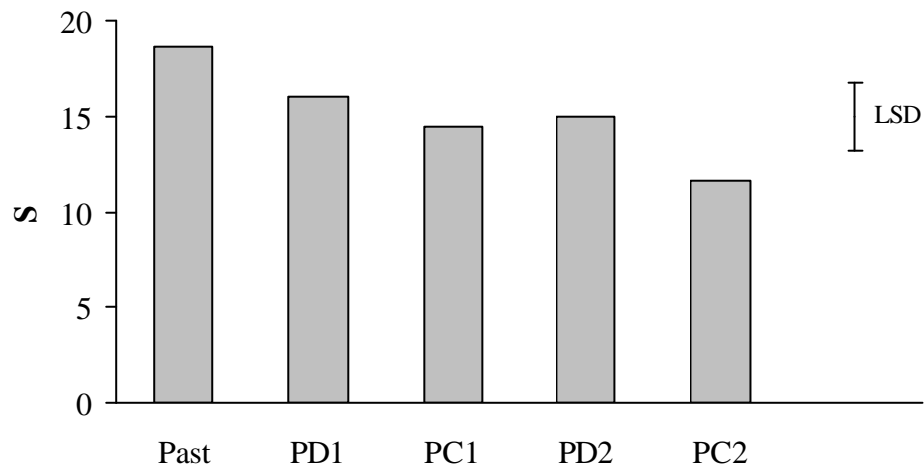
Em negrita destacam-se os efeitos puros significativos ( $P = 0,05$ )



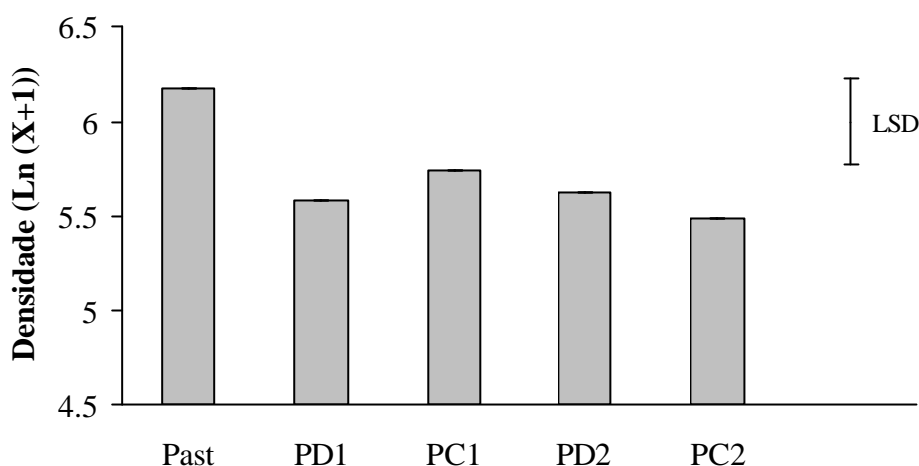
**Figura 4.** Índice de diversidade ( $H'$ ), no verão de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0,05$ ).



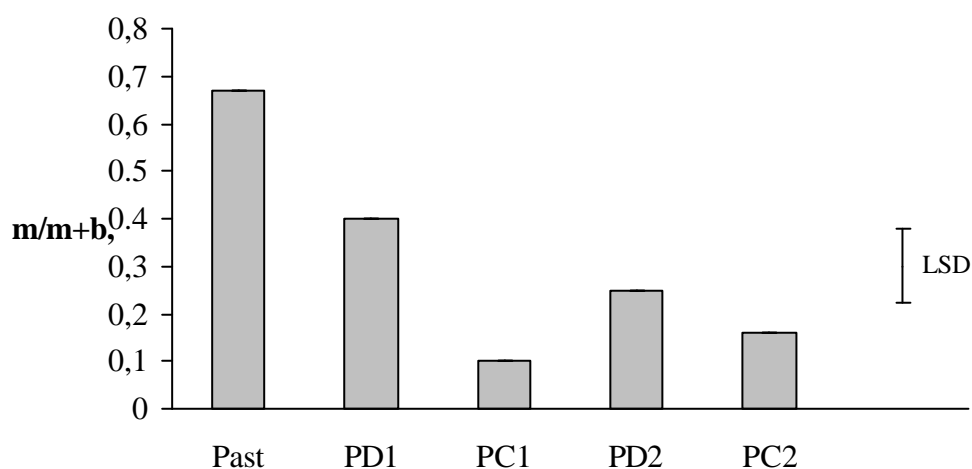
**Figura 5.** Índice de dominância (Ds), no verão de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05).



**Figura 6.** Riqueza (S), no verão de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05).



**Figura 7.** Densidade de nematóides, no verão de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ).



**Figura 8.** Relação micófagos/micófagos+bacteriófagos (m/m+b), no verão de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ).

### 3.4. Primavera 2007

#### 3.4.1. Estrutura trófica da comunidade de nematóides

Determinaram-se 41 gêneros de nematóides, os quais foram classificados em quatro grupos tróficos: fitófagos, bacteriófagos, micófagos e onívoro-predadores (Tabela 14), observou-se uma riqueza maior nos grupos dos bacteriófagos e onívoro-predadores apresentando ambos 13 gêneros, enquanto os fitófagos apresentaram 8 gêneros e os micófagos apresentaram 7 gêneros.

**Tabela 14.** Gêneros de nematóides encontrados em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), na primavera de 2007, e classificados de acordo com sua forma de alimentação.

Fitoparasitas	Bacteriófagos	Micófagos	Onívoros-Predadores
<i>Coslenchus</i>	<i>Acrobeloides</i>	<i>Aphelenchoides</i>	<i>Aporcelaimus</i>
<i>Helicotylenchus</i>	<i>Alaimus</i>	<i>Aphelenchus</i>	<i>Aporcelaimellus</i>
<i>Hoplolaimus</i>	<i>Amphidelus</i>	<i>Diphtherophora</i>	<i>Carcharolaimus</i>
<i>Meloidogyne</i>	<i>Cephalobus</i>	<i>Ditylenchus</i>	<i>Clarkus</i>
<i>Pratylenchus</i>	<i>Cruznema</i>	<i>Paraphelenchus</i>	<i>Discolaimium</i>
<i>Scutellonema</i>	<i>Eucephalobus</i>	<i>Tylencholaimellus</i>	<i>Discolaimus</i>
<i>Psilenchus</i>	<i>Mesorhabditis</i>	<i>Tylencholaimus</i>	<i>Discolaimoides</i>
<i>Tylenchus</i>	<i>Panagrolaimus</i>		<i>Dorylaimus</i>
	<i>Plectus</i>		<i>Dorilaimido s.l.</i>
	<i>Prismatolaimus</i>		<i>Eudorylaimus</i>
	<i>Rhabditis</i>		<i>Granunchulus</i>
	<i>Rhabditis s.l.</i>		<i>Labronema</i>
	<i>Seleborca</i>		<i>Prodorylaimus</i>

A distribuição total dos distintos grupos tróficos no período da primavera apresentou-se assim: fitoparasitas (53,3%), bacteriófagos (20,3%), micófagos (6,6%) e onívoros - predadores (19,4%).

A densidade média total de nematóides variou entre 10,41 e 31,11 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup> nos diferentes tratamentos (Tabela 14), valores muito superiores ao registrados nas épocas das amostragens anteriores. O PD1 N120 apresentou a maior densidade de nematóides com 31,11 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup>. Apresentou também, a maior densidade de nematóides fitoparasitas (19,27 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup>). Os grupos restantes apresentaram-se com sua maior densidade nos seguintes tratamentos, bacteriófagos no tratamento PD1 N0 (13,16 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup>), micófagos no Past. N120 (3,86 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup>) e onívoro-predadores na Past. N0 (6,70 x 10<sup>5</sup> indivíduos/m<sup>2</sup>). Os nematóides micófagos não ocorreram no PD2 N120 (Tabela 15). Em relação à elevada presença de nematóides fitoparasitas, NILES & FRECKMAN (1998) relataram que ocorre aumento na abundância destes em áreas sob estresse ou distúrbios ambientais.

NEHER & CAMPBELL (1994) citam que a cadeia alimentar em solos agrícolas cultivados é tipicamente fundamentada mais em bactérias que em fungos e a razão entre

nematóides micófagos e bacteriófagos pode ser uma importante descrição da via de decomposição na cadeia alimentar. No período de estudo (primavera), a razão entre micófagos e bacteriófagos foi de 0,32 sendo este valor maior do que foi calculado por GOMES et al. (2003) em plantações de soja no Distrito Federal (0,10). O valor da razão entre micófagos e bacteriófagos para a primavera indica que a via prevalente de decomposição da matéria orgânica continua sendo direcionada pela ação das comunidades bacterianas. Quanto ao índice  $m/(m+b)$  de valor 0,24 corrobora o indicado pela relação  $f/b$  prevalecendo a ação das bactérias na degradação da matéria orgânica. A relação  $m+b/fp$ , que apresentou o valor de 0,50, evidenciou um decréscimo da herbivoria em relação ao verão. O valor de 0,50 indicou o equilíbrio entre o processo de decomposição e a herbivoria. Isto se relaciona, provavelmente com o maior desenvolvimento das populações de fitoparasitas que foram geradas pelo cultivo do milho e das pastagens, quanto ao desenvolvimento das populações de bacteriófagos no PD1 N0.

**Tabela 15.** Abundancia média dos nematóides do solo ( $\times 10^5$  indivíduos/m<sup>2</sup>), no solo do Pampa Austral (Argentina) sob distintos sistemas de cultivo. (primavera 2007).

Grupo Trófico	Familia	Gênero	PC1 N0	PC1 N120	PC2 N0	PC2 N120	Past N0	Past.N120	PD1N0	PD1 N120	PD2 N0	PD2 N120	
<b>Fitoparasitas</b>	Heteroderidae	<i>Meloidogyne</i>											
	Hoplolaimidae	<i>Helicotylenchus</i>	5,80	3,27	3,47	5,06	3,47	4,00	4,80	5,47	8,73	8,70	
		<i>Hoplolaimus</i>	3,66	9,60	0,40		2,67	2,07	1,40	7,40	0,87	1,80	
		<i>Scutellonema</i>											0,13
	Pratylenchidae	<i>Pratylenchus</i>	0,86			1,14			2,27	0,67			0,60
	Tylenchidae	<i>Coslenchus</i>	1,60				2,13	2,27	0,53				
		<i>Psilenchus</i>							0,07				
<i>Tylenchus</i>		1,13	0,87	2,40	2,50	3,80	3,90	1,73	5,73	1,33	2,47		
Total		<b>121,09</b>	13,07	13,74	6,27	8,70	12,07	12,34	11,00	19,27	10,93	13,70	
<b>Bacteriófagos</b>	Rhabditidae	<i>Cruznama</i>	0,33		2,40	1,82		0,87	5,70		0,40		
		<i>Rhabditis</i>	1,93	0,27	3,00	2,65	1,80	1,40	5,07	2,20	1,93	1,73	
		<i>Mesorhabditis</i>				0,60				1,60	1,67	0,13	
	Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus</i>		1,00									0,33
	Plectidae	<i>Plectus</i>	0,20		0,20		0,73				0,20		
	Cephalobidae	<i>Acrobeloides</i>			0,33					0,40			0,70
		<i>Cephalobus</i>			0,13	0,07							
		<i>Eucephalobus</i>											
		<i>Seleborca</i>	0,33		0,07		1,47	1,53				0,20	0,33
	Prismatolaimidae	<i>Prismatolaimus</i>											
	Alaimidae	<i>Alaimus</i>								0,33			
		<i>Amphidelus</i>								0,06			
	Total		<b>46,11</b>	2,79	1,73	6,34	4,47	4,00	3,80	13,16	3,87	2,86	3,09
<b>Micófagos</b>	Anguinidae	<i>Ditylenchus</i>						0,40	0,27				
	Aphelenchidae	<i>Aphelenchus</i>	0,60		0,60		1,53	1,33	1,00	0,60	0,33		
	Aphelenchoididae	<i>Aphelenchoides</i>	0,13		0,06	0,36	0,13		0,07	0,60	0,53		
	Diphtherophoridae	<i>Diphtherophora</i>							0,53				
	Paraphelenchidae	<i>Paraphelenchus</i>	0,13				0,20						
	Tylencholaimellidae	<i>Tylencholaimellus</i>		0,07		1,01	0,94	2,13	0,07	1,07	0,20		
	Tylencholaimidae	<i>Tylencholaimus</i>					0,20						
	Total		<b>15,09</b>	0,86	0,07	0,66	1,37	3,00	3,86	1,94	2,27	1,06	

Continuação **Tabela 15**

<b>Onívoros</b>	Dorylaimidae	<i>Dorylaimus</i>	0,33	0,13	0,33		1,73	1,40	0,40	0,73	0,53	0,40
<b>Predadores</b>		<i>Prodorylaimus</i>	0,13		0,07				0,20			
		<i>Labronema</i>	0,67	1,80	0,20	1,14	1,13	0,87		2,93	0,33	1,13
		<i>Eudorylaimus</i>	0,20	0,47	1,20	0,66	0,50	0,87	0,13	1,13		0,20
		<i>Discolaimium</i>					0,40		0,13			
		<i>Discolaimus</i>			0,33				0,20			
		<i>Discolaimoides</i>		0,20		0,07					0,33	
		<i>Dorilaimido s. lat.</i>	0,13	0,13	0,40	0,45	0,73	0,66	0,27	0,60	0,33	0,07
		<i>Aporcelaimus</i>			0,13	0,33			0,07			0,73
		<i>Aporcelaimellus</i>	0,80	1,60	0,40	1,23	2,20	2,13	0,73	0,27	1,40	0,40
	Carcharolaimidae	<i>Carcharolaimus</i>						0,27				
	Mononchidae	<i>Clarkus</i>		0,40	0,07	0,33			1,13		0,73	
		<i>Granunchulus</i>						0,27				
<b>Total</b>	<b>44,78</b>		2,60	5,70	3,13	4,22	6,70	6,47	3,30	5,70	3,70	3,53
<b>Total grupos</b>	<b>227,07</b>		<b>19,32</b>	<b>21,24</b>	<b>10,41</b>	<b>18,76</b>	<b>25,77</b>	<b>26,00</b>	<b>29,39</b>	<b>31,11</b>	<b>19,76</b>	<b>20,32</b>

Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização..



Na Tabela 16 são apresentados os índices descritores da comunidade de nematóides. Dos tratamentos, a pastagem não fertilizada (Past N0) apresentou o maior valor de  $H'$  (2,55), indicando a presença de gêneros “raros”. Esta área apresentou também o menor valor de dominância de Simpson ( $D_s$ ), elevado valor do índice de equitatividade ( $J'$ ), e finalmente 16 gêneros determinados ( $S$ ). Estes resultados refletem uma comunidade equilibrada, com ausência de gêneros dominantes e com uma distribuição compensada do número de nematóides nos diferentes gêneros presentes. O tratamento Past N120 apresentou um comportamento similar ao Past N0 (Tabela 15).

**Tabela 16.** Índices ecológicos das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa Austral (Balcarce, Argentina), para a primavera de 2007.

Tratamentos	Índices			
	$H'$	$D_s$	$J'$	$S$
Past N0	2,55	0,09	0,93	16
Past N120	2,45	0,10	0,92	14
PC1 N0	2,25	0,16	0,79	17
PC1 N120	1,83	0,25	0,72	13
PD1 N0	2,15	0,18	0,81	15
PD1 N120	2,18	0,14	0,84	13
PC2 N0	2,04	0,17	0,83	12
PC2 N120	2,25	0,20	0,76	19
PD2 N0	1,94	0,25	0,74	14
PD2 N120	1,83	0,26	0,74	12

$H'$ : Índice de diversidade de Shannon;  $D_s$ : Índice Diversidade de Simpson;  $J'$ : Índice de Equitatividade;  $S$ : Riqueza ( $N^\circ$  de taxa). Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização.

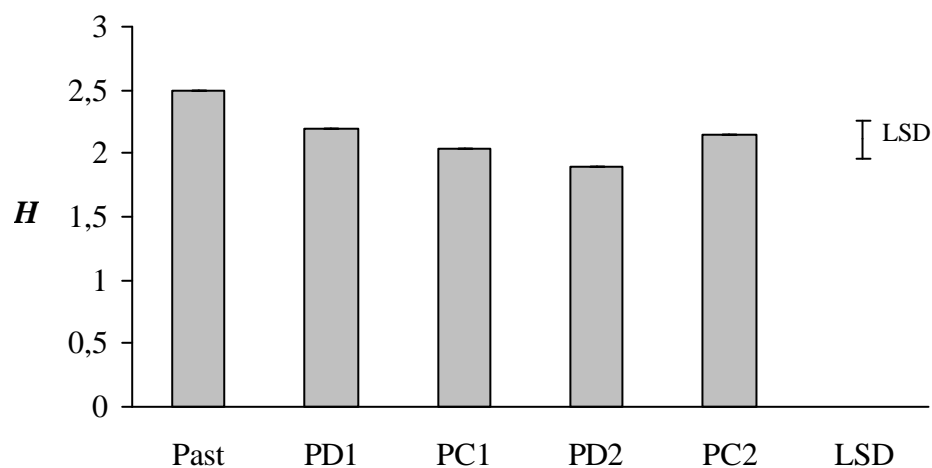
Na primavera os índices de diversidade, dominância, equitatividade e a relação  $m+b/fp$  foram influenciados pelo sistema de plantio, enquanto a riqueza e a relação  $m/m+b$  foram influenciados pela interação sistema de plantio x fertilização (Tabela 17). O  $H'$  foi maior no Past. do que outro tratamentos (Figura 9). A dominância foi maior no tratamento PD2 do que PC2, PD1 e Past. (Figura 10). A equitatividade foi maior no Past. do que nos tratamentos restantes (Figura 11). No caso da riqueza, pode-se perceber o comportamento diferencial dependendo da condição de fertilização, na condição N120 o PC2 diferenciou-se significativamente dos restantes tratamentos apresentando maior número de gêneros presentes, mas gêneros de nematóides bacteriófagos e onívoros. Enquanto na condição N0 não existiram diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 12). A relação  $m/m+b$  comportou-se diferencialmente segundo o nível de fertilização (Figura 13). Para N0 os tratamentos Past. e PC1 foram significativamente maiores do que PD1 e PC2, enquanto para a condição N120, o Past e PD1 diferenciam-se significativamente dos restantes tratamentos apresentando os maiores valores para a relação. Na relação  $m+b/fp$  o tratamento PC2

diferenciou-se dos restantes tratamentos apresentando um valor significativamente maior para a relação (Figura 14), principalmente se detectaram altas densidades populacionais dos nematóides *Rhabditis*, *Cruzneima* (Tabela 15), considerados oportunistas (FERRIS et al., 2001) que aumentariam sua presença com as actividades agrícolas indicando resposta bacteriana à baixa relação C:N (BONGERS & BONGERS, 1998) vinculada à degradação do residuo do milho no tratamento PC2.

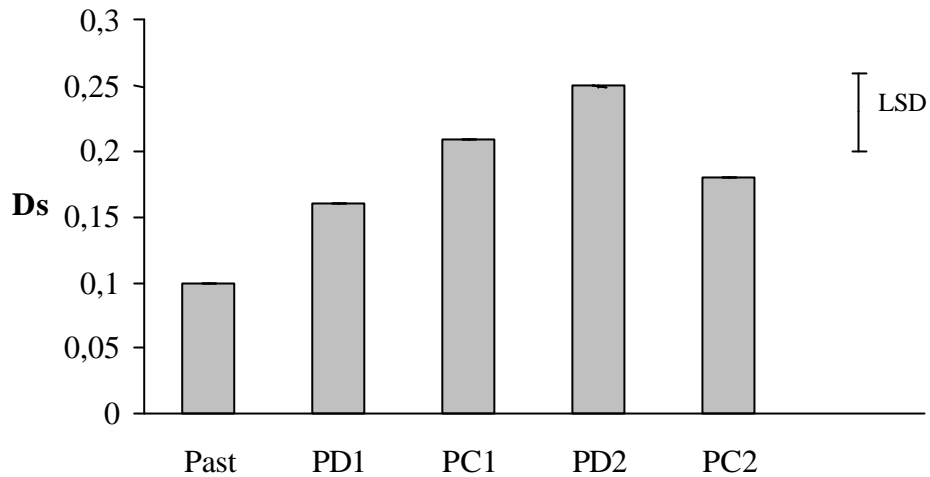
**Tabela 17.** Probabilidades para os índices de diversidade de Shannon ( $H'$ ), Simpson (Ds), Equitatividade ( $J'$ ), Riqueza (S), Densidade (d) e para as relações micófagos/(micófagos+bacteriófagos) ( $m/(m+b)$ ) e ((micófagos+bacteriófagos)/fitoparasitas) ( $(m+b)/fp$ ) na primavera de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, cultivo convencional 1, cultivo convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).

Fontes de variação	Probabilidades						
	$H'$	Ds	$J'$	S	d	$m/m+b$	$m+b/fp$
Sistema de Plantio	<b>0,006</b>	<b>0,0008</b>	<b>0,0001</b>	0,559	0,055	<b>0,0001</b>	<b>0,027</b>
Fertilização	0,389	0,229	0,192	0,684	0,332	0,189	0,669
Sistema x Fertilização	0,297	0,229	0,290	<b>0,0049</b>	0,931	<b>0,0001</b>	0,223

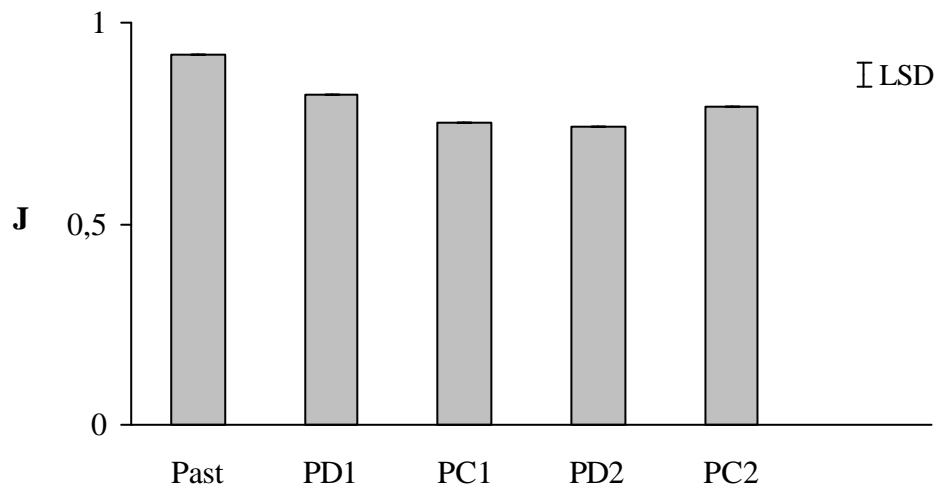
Em negrita destacam-se os efeitos puros significativos ( $P = 0,05$ )



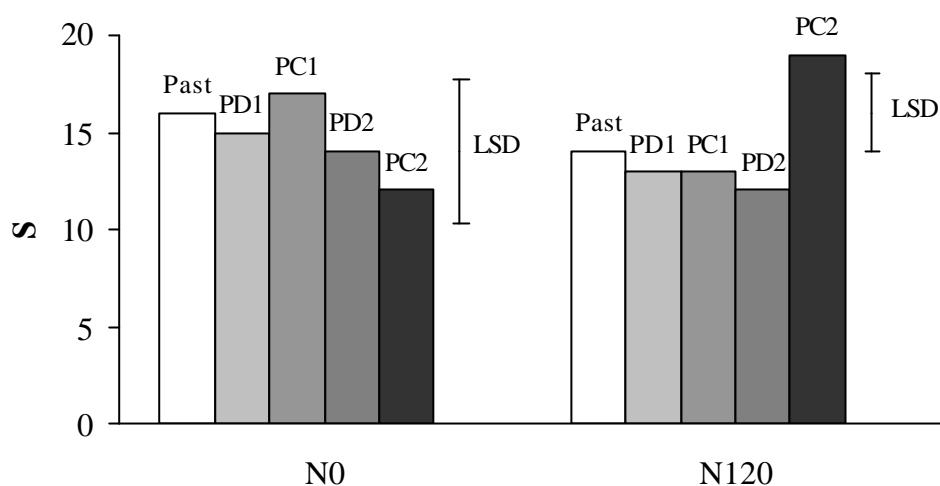
**Figura 9.** Índice de diversidade ( $H'$ ), na primavera de 2007 para um solo do Pampa Austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0,05$ ).



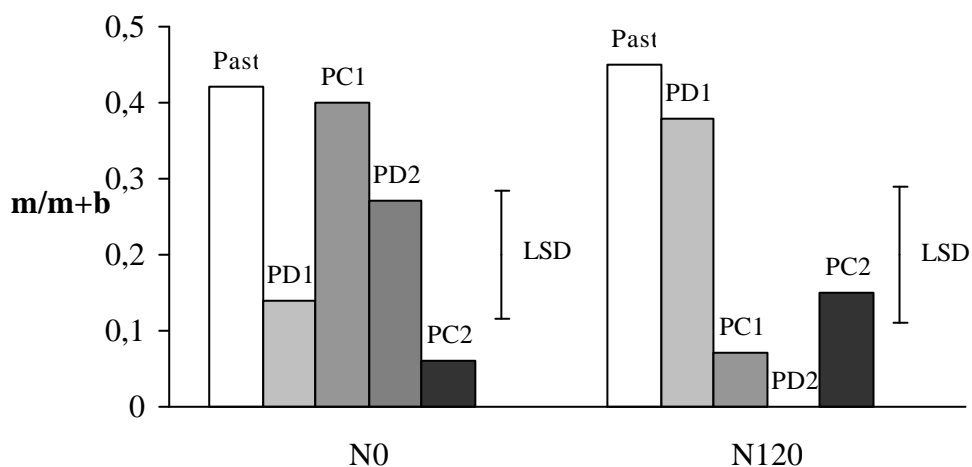
**Figura 10.** Índice de dominância (Ds), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ).



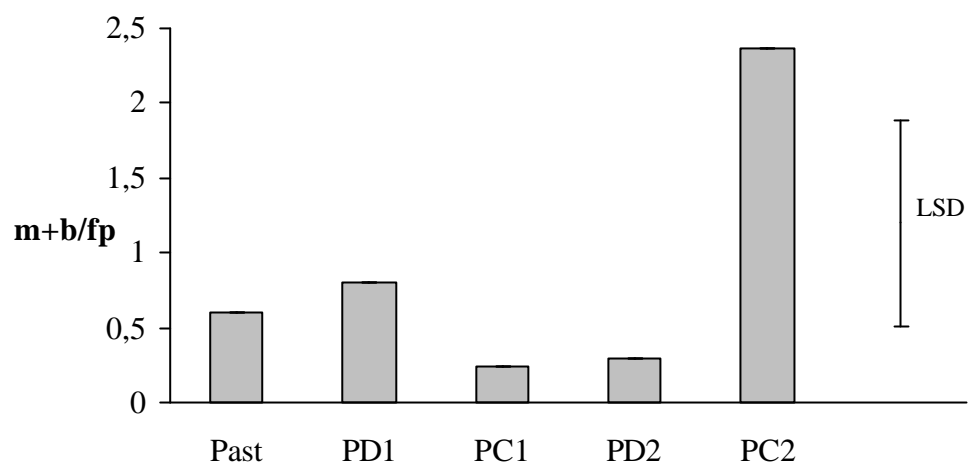
**Figura 11.** Índice de equitatividade ( $J'$ ), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ).



**Figura 12.** Riqueza (S), na primavera de 2007 nos diferentes tratamentos para um solo do pampa austral, nas duas condições de fertilização. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05).



**Figura 13.** Relação micófitos/micófitos+bacteriófitos (m/(m+b)), na primavera de 2007 nos diferentes tratamentos para um solo do Pampa Austral, nas duas condições de fertilização. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05).



**Figura 14.** Relação micófitos+bacteriófitos /fitoparasitas (m+b/fp), na primavera de 2007 nos diferentes tratamentos para um solo do pampa austral. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD (P < 0.05).

#### 4. CONCLUSÕES

Do estudo desenvolvido que comparou abundância, diversidade e relações tróficas em diferentes sistemas de cultivos no Pampa Austral Argentino conclui-se que: a) a abundância, grupos tróficos, canal de decomposição da matéria orgânica variaram conforme ao sistema de cultivo. b) a diversidade foi maior naqueles sistemas com menor intervenção antrópica; c) Os nematóides bacteriófagos e onívoros foram sensíveis à atividades de manejo e d) a Pastagen (Past.) foi uma testemunha eficiente na comparação dos sistemas de cultivo sobre a comunidade de nematóides do solo.

## **CAPÍTULO II**

### **COMUNIDADE DE NEMATOIDES DO SOLO: BIOINDICAÇÃO EM DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO**

## RESUMO

Neste capítulo determinaram-se índices indicadores de perturbação das comunidades de nematóides que ocorrem em dois sistemas de plantio (plantio direto e plantio convencional), com duas rotações (rotação agricultura-pastagem e rotação agricultura contínua) e duas condições de fertilização, com a dose de nitrogênio (N) de 120 kg N ha<sup>-1</sup> na forma de uréia (46-0-0) e sem dose de N. Foram conduzidas quatro amostragens estacionais e realizou-se a extração dos nematóides do solo pelo método de flutuação-centrifugação. Determinaram-se os gêneros presentes que foram incluídos em diferentes grupos tróficos e calcularam-se os índices indicadores de perturbação índice de maturidade (IM), índice de maturidade modificado (mIM), índice de maturidade cp 2-5 (IM 2-5), índice de parasitas de plantas (IPP) e os índices para determinar o perfil faunal índice de enriquecimento (IE), índice de estrutura (IS) e índice canal (IC). No geral, e segundo os índices de maturidade (IM) o tratamento Pastagem contínua (Past) e os tratamentos com menor intervenção antrópica tiveram ambientes mais estáveis. O IC indicou prevalência de bactérias na degradação, mas variou dependendo da fertilização. O estudo da rede trófica apresentou o perfil faunal que variou para as diferentes épocas e tratamentos no quadrante A e B, característico dos agroecossistemas.

**Palavras Chave:** Perturbação. Sistemas de cultivo. Índice de maturidade. Perfil faunal



## ABSTRACT

In this study we determined indices indicating disturbances (maturity indices) of community that was occurring in two tillage systems (no tillage and conventional tillage), with two rotations (rotation crop-rotation grazing and agriculture remains) and two fertilization, with the nitrogen (N) 120 kg N ha<sup>-1</sup> as urea (46-0-0) and without N. Were conducted four seasonal samplings, there was the extraction of soil nematodes by flotation-centrifugation. It was determined the genera of different trophic groups present and calculated indices indicators of disturbance MI, mMI, MI 2-5, PPI and indexes to determine the profile faunal EI, SI, CI. Overall, according to maturity index (MI) the Past. and the treatments with less human intervention had more stable environments. The CI indicated the prevalence of bacteria in the degradation, but varied depending on fertilization. The study of trophic foodweb presented the faunal profile varying for different times and treatments in quadrant A and B, characteristic of agroecosystems.

**Keywords:** Disturbances. Tillage systems. Maturity index. Faunal profile

## 1. INTRODUÇÃO

Os nematóides são os Metazoários mais abundantes no solo, ocupando posições-chaves na maioria dos níveis tróficos das redes alimentares desse substrato, podem ser extraídos e enumerados mediante metodologias de extração padronizadas e são prontamente identificados por caracteres morfológicos. Além disso, uma vez que seus hábitos alimentares são claramente relacionados à estrutura oral, seus papéis tróficos são facilmente inferidos. Cada amostra de solo contém uma abundância e diversidade de nematóides e, conseqüentemente, tem um elevado valor intrínseco de informação (BONGERS, 1999; BONGERS & BONGERS, 1998; BONGERS & FERRIS, 1999; YEATES et al., 1993). Em conjunto essas características possibilitariam a utilização desses organismos como bioindicadores da qualidade ou perturbação dos sistemas agrícolas utilizados no Pampa Austral Argentino, região Mar e Serras.

### 1.1. Atributos dos Nematóides como Bioindicadores

As estruturas tróficas das comunidades de nematóides podem ser alteradas por práticas agrícolas, tais como sistema de cultivo, uso de pesticidas, adubação, uso de matéria orgânica (COLEMAN et al., 1991; NEHER & CAMPBELL, 1994). Os nematóides da ordem Dorylaimida, por exemplo, são considerados indicadores de perturbação do ecossistema, apresentando baixas densidades em solos cultivados (FERRIS & FERRIS, 1974).

Estudos sobre o papel dos nematóides na ciclagem de nutrientes no solo têm sugerido que estes desempenham uma importante função, através de suas interações com bactérias e fungos, atuando como reguladores da microflora do solo, geralmente aumentando o crescimento das plantas, uma vez que facilitam a disponibilidade de N mineral e outros nutrientes como o fósforo (GRIFFITHS, 1994; INGHAM et al., 1985; COLEMAN et al., 1983).

Os taxa desses organismos estão compostos de espécies com um alto grau de similaridade morfológica e funcional; os níveis hierárquicos mais baixos de um táxon apresentam a maior similaridade entre si. Espécies de nematóides de famílias monofileticas, no geral têm semelhança nas características de vida o que reflete em similares r e K-estratégias. Conseqüentemente espécies relacionadas a uma família exibem similar resposta às perturbações ambientais (BONGERS, 1990).

Baseado nas estratégias de vida, as famílias de nematóides podem ser ordenadas de colonizador a persistente representado pelos valores c-p em uma escala que va de valor um (colonizadores primários de novos recursos) a cinco (persistentes em ambientes não perturbados) (BONGERS, 1990). Assim o índice de maturidade (IM) para um solo é o valor meio dos valores c-p, dos indivíduos, numa amostra representativa do solo. Na prática, os valores do IM para um solo, sujeito a variados níveis de perturbação, varia de aproximadamente 2,0 em sistemas enriquecidos com nutrientes para 40 em ambientes naturais. Práticas agrônômicas, tais como a incorporação de material orgânico no solo, estimula a atividade microbiana e provêem recursos para as espécies de nematóides oportunistas (c-p 1) e conseqüentemente, se produz um rápido decréscimo do IM seguido de um gradual incremento durante a subseqüente sucessão (FERRIS et al., 1996; ETTEMA & BONGERS, 1993).

Os nematóides fitoparasitos são omitidos do cálculo do IM, uma vez que sua ocorrência e abundância estão fortemente determinadas pela estrutura da comunidade, *status* do hospedeiro e vigor das plantas. Os fitoparasitas, os quais têm menores taxa reprodutiva em relação aos bacteriófagos, respondem ao desenvolvimento das plantas hospedeiras (BONGERS et al., 1997). As Espécies que são sensíveis às perturbações (ex. família

Trichodoridae), podem exibir um rápido ressurgimento na presença de hospedeiros com sistema radicular vigoroso. Dessa forma, o equivalente do IM para nematóides fitoparasitas é denominado índice de fitoparasitas (IPP) e é calculado separadamente. O IPP tende a responder em ambientes enriquecidos de forma inversa ao IM (BONGERS et al., 1997). O IM decresce, tanto em ambiente estressado como enriquecido; no estressado decrescem as espécies sensíveis (c-p altos) e em ambientes enriquecidos incrementam a abundância dos oportunistas (c-p 1). Por isso, para diferenciar o decréscimo do IM por enriquecimento e poluição de estresse ambiental é melhor omitir as espécies de  $c-p = 1$  (BONGERS & KORTHALS, 1993 e KORTHALS et al., 1996 em NEHER & DARBY, 2005; BONGERS et al., 1995). As taxas de nematóides oportunistas (c-p = 1) são reavaliadas porque estes são considerados oportunistas de enriquecimento e as densidades da população deles aumentam rapidamente em resposta à adição de nutrientes e poderiam não necessariamente refletir mudanças nas condições ecológicas do solo a longo prazo. Essas taxa com valores de c-p entre 2 e 5 (IM2-5) são temporalmente mais estáveis e podem prover informações relativamente a longo prazo das condições ambientais.

Por outro lado, YEATES (1994) e WASILEWSKA (1994) propuseram uma modificação no índice IM, baseado na inclusão dos fitoparasitas ao cálculo do índice gerando o denominado índice de maturidade modificado (mIM).

As alterações da estrutura e função da rede trófica do solo pode ser uma consequência de perturbações ambientais. Porém, avaliações do estado da rede trófica do solo pode ser complexa para um estudo estrutural e funcional. As Amostragens, extração, identificação e avaliação podem ser difíceis para algumas taxa e tecnologicamente impossível para toda uma fauna (FERRIS et al., 2001). Por outro lado, a análise funcional da condição da rede trófica do solo pode incluir a taxa de respiração do solo, decomposição da matéria orgânica e outros processos (GRIFFITHS et al., 2001). A análise funcional pode entretanto não indicar como essas funções estão sendo cumpridas ou a sua sustentabilidade (FERRIS et al., 2001).

Uma alternativa para uma completa análise estrutural poderia ser proporcionada pela avaliação da presença e abundância de grêmios indicadores (FERRIS et al., 2001). Recentes desenvolvimentos em análise da fauna de nematóides incluíram a integração dos grupos tróficos de nematóides (YEATES et al., 1993) e a determinação dos valores c-p dentro dos grupos funcionais (BONGERS, 1990; BONGERS & BONGERS, 1998), gerando os denominados grêmios funcionais. Esses representam um agrupamento de taxa de semelhante biologia e resposta para as condições ambientais que sugerem funções, na teia alimentar do solo. Isto permite o cálculo de três índices: enriquecimento (IE), estrutura (IS) e índice canal (IC) (FERRIS et al., 2001). Embora, o arranjo em grêmios não manifesta a requintada variabilidade biológica do nível de espécies, o que representa o verdadeiro detalhe da função dos organismos e a comunidade na rede alimentar (POLIS, 1995; WALL & MOORE, 1999), Mas resolve, em parte, os efeitos dos artefatos prováveis da composição dos grupos tróficos (FERRIS, 1993). Assim, a análise estrutural da comunidade de nematóides proporciona uma poderosa ferramenta para a diagnose da complexidade e *status* da rede alimentar do solo (PARMELEE, 1995; FERRIS et al., 1999; FERRIS et al., 2001). Esta ferramenta possui um importante potencial para orientar o manejo dos recursos do solo, tanto para diagnóstico como para as decisões do próprio manejo.

Desta forma o objetivo do presente capítulo é determinar o nível de perturbação do solo através da nematofauna, fazendo uso das ferramentas propostas, como são, os índices IM, IM2-5, IPP, mIM, como também, a determinação do perfil faunal mediante os índices IE, IS e IC sob diferentes sistemas de cultivo no Pampa Austral Argentino, Região Mar e Serras.

## 2. MATERIAL E METODOS

Os estudos foram conduzidos no Pampa Austral (Região Mar e Serras) em parcelas de um experimento de rotações mistas e seqüência de cultivos de longa duração (30 anos), na Unidade Integrada Balcarce da Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Mar del Plata - Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária (UIB) Balcarce, Buenos Aires, Argentina (37° 45' S, 58° 18' O, 130 m acima do nível do mar). Os solos do experimento são classificados segundo SOIL TAXONOMY (1990) como Argiudol típico fino, ilítico, térmico e Paleudol petrocálcico, franco, ilítico, térmico, com teores de matéria orgânica maiores que 6,2 % ( $\pm 0,3$ ) e pH 5,7 ( $\pm 0,4$ ). Esse experimento apresenta um desenho em blocos completos ao acaso com arranjo em parcelas divididas e três repetições.

### 2.1. Amostragem

Nas unidades experimentais (subparcelas de 10 x 10 m) foram coletadas 6 subamostras de solo em zigue-zage. Utilizou-se um trado cilíndrico de 2,5 cm de diâmetro para coletar o solo a 0 - 20 cm de profundidade. Essas seis subamostras foram misturadas para formar uma amostra composta de aproximadamente um litro de solo. As amostragens foram realizadas nas diferentes estações do ano, no outono e o inverno de 2006 e no verão e a primavera de 2007 nos seguintes tratamentos:

Past N0: Pastagem de 12 anos sem dosagem de N.

Past N120: Pastagem de 12 anos com dosagem de N.

PC1 N0: 8 anos de agricultura sob PC depois de pastagem, sem dosagem de N.

PC1 N120: 8 anos de agricultura sob PC depois de pastagem, com dosagem de N.

PD1 N0: 8 anos de agricultura sob PD depois de pastagem, sem dosagem de N.

PD1 N120: 8 anos de agricultura sob PD depois de pastagem, com dosagem de N.

PC2 N0: 30 anos de agricultura sob PC, sem dosagem de N.

PC2 N120: 30 anos de agricultura sob PC, com dosagem de N.

PD2 N0: 12 anos de agricultura sob PD sem dosagem de N.

PD2 N120: 12 anos de agricultura sob PD com dosagem de N.

Past: Pastagem; PC: Plantio convencional; PD: Plantio direto; 1: rotação agricultura-pastagem; 2: rotação agricultura contínua.

Com exceção do Past, os tratamentos são combinações de dois sistemas de manejo (PC e PD) e duas combinações de cultivos (rotação): Rotação 1 (1): rotação agricultura-pastagem (em PC1 e PD1) e Rotação 2 (2): agricultura contínua (PC2 e PD2) os que foram atribuídos à parcela principal e a dose de 120 kg N ha<sup>-1</sup>, na forma de uréia (46-0-0), e sem N o que foi atribuído à subparcela.

A experiência começou no outono de 2006 (fim de março), quando se fez a primeira amostragem sob a palhada de trigo. Na 1ª quinzena do mês de Julho de 2006 o solo foi preparado em tratamentos PC2 e PC1, utilizando a grade e escarificador (rastra de disco e cíncl).. No fim do mês de agosto se fez a amostragem de inverno de 2006. Para o início de setembro, nos tratamentos PC1 e PD1 se fez o plantio da pastagem mista (*Lolium perenne* L., *Dactylis glomerata* L., *Trifolium pratense* L. e *Trifolium repens* L.). Em outubro no tratamento PC2 foi passado o escarificador a disco e o vibra-cultivador, posteriormente nos tratamentos PC2 e PD2 se fez o cultivo do milho (Dekalb 682RR densidade de 78.500 ha<sup>-1</sup>). No mês de novembro, se aplicou Glifosato e Atrazina ao milho e herbicida na pastagem dos tratamentos PC1 e PD1. Nos tratamentos PC2 e PD2 se aplicou uréia a lanço. No mês de dezembro no tratamento Past. e nas pastagens novas (PC1 e PD1) passou-se a roçadeira. Em

janeiro de 2007 se fez a terceira amostragem (verão). No início do mês de junho de 2007 se passou a roçadeira na palhada do milho dos tratamentos PC2 e PD2 e no final do mês aplicou-se fertilizante (superfosfato triplo 0-46-0) em todos os tratamentos e no mês de agosto a aiveca (arado de rejas) no tratamento PC2. No fim do mês de setembro de 2007 se fez a última amostragem (primavera). Durante a coleta as amostras de solo foram transferidas a sacos plásticos devidamente identificados e conservadas no interior de recipiente de isopor. Ao término das coletas, em cada época, as amostras foram imediatamente levadas ao laboratório de Nematologia da Estação Experimental de Balcarce (INTA) para processamento e extração dos nematóides.

Para extração dos nematóides do solo, foi utilizado o método de flutuação-centrifugação como descrito por CAVENESS & JENSEN, 1955. Basicamente, 100g de solo são passados em duas peneiras sobrepostas, uma com malha de 60 Mesh (250  $\mu\text{m}$ ) e outra de 500 Mesh (25  $\mu\text{m}$ ). O material retido em cada peneira foi suspenso em água, e centrifugados por 7 min a 3000 rpm (1800 g). O material precipitado na centrifugação foi resuspenso em solução de sacarose de densidade 1,18  $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$  e centrifugado novamente por 5 min a 3000 rpm (1800 g). Finalmente, o sobrenadante foi passado em peneira (500 Mesh) e o que for retido foi armazenado em água (recipientes de 25 mL). Dos recipientes contendo nematóides foi tomada uma alíquota e colocada em microtubos de 1,5  $\mu\text{L}$  contendo álcool 70% e foram depositados em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os recipientes originais (25 mL), contendo os nematóides restantes, foram conservados em fixador de Golden. As lâminas para identificação dos nematóides foram processadas em condições controladas, em estufa a  $45^{\circ}\text{C}$ , utilizando-se a solução Seinhorst I e II, como descritas por SEINHORST (1959).

A identificação dos nematóides foi feita por observação das lâminas em microscópio óptico, a 1000x chegando-se até a categoria de gênero, utilizando-se a literatura sobre o tema (JAIRAJPURI & AHMAD, 1992; GOODEY, 1963; FORTUNER et al., 1988; HEYNS, 1971; SIDDIQUI, 1985, CHAVES et al., 1995).

A partir dos taxa determinados em cada uma das amostras, foram calculados os seguintes índices.

a) Índice de maturidade (IM) de BONGERS (1990) e índice de maturidade modificado (mIM) de YEATES (1994) para incorporar características ecológicas dos gêneros, baseado em colonizadores e persistentes, com escala de 1 a 5.

b) Índices de parasitas de plantas (IPP) BONGERS (1990), baseado só nos valores c-p de nematóides fitoparasitas.

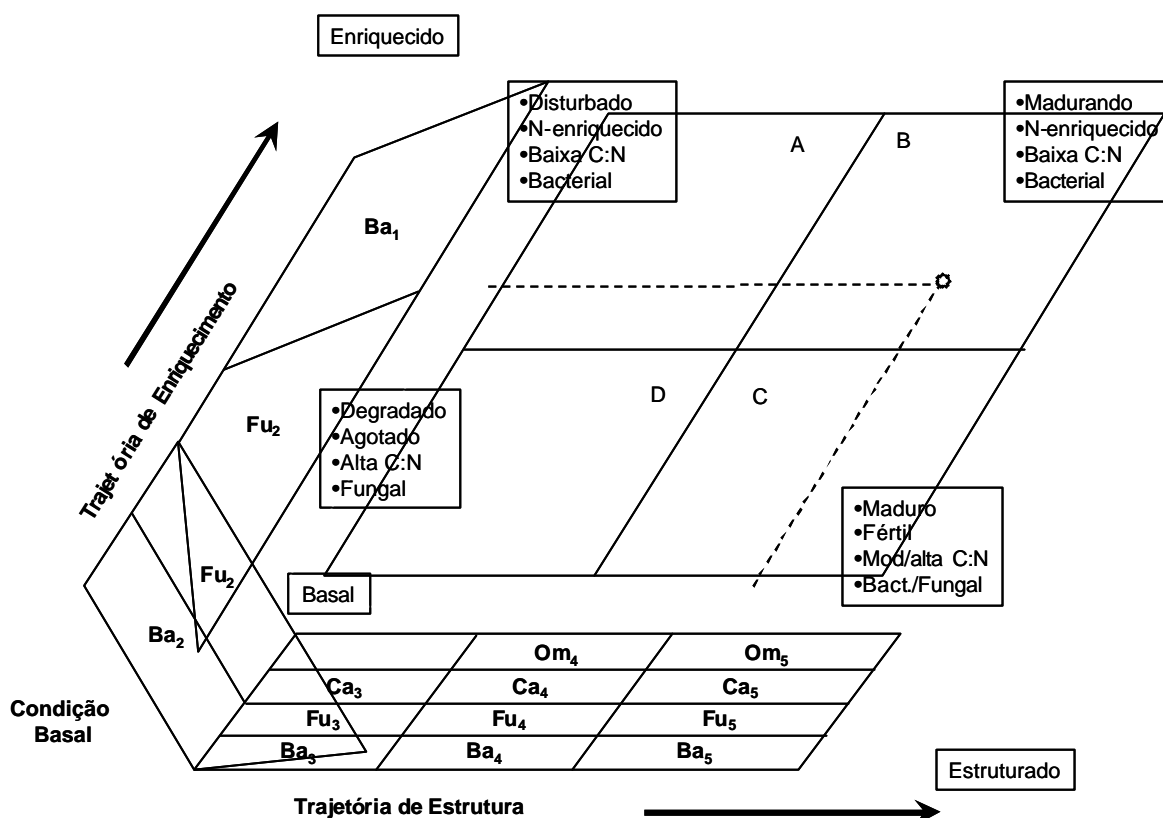
c) Índice de maturidade IM2-5 (BONGERS & KORTHALS, 1993) com escala c-p de 2 a 5, excluindo os colonizadores oportunistas c-p 1.

d) Índice de enriquecimento (IE), Índice de estrutura (IS) e Índice canal (IC) segundo FERRIS et al. (2001).

O cálculo dos índices de maturidade são realizados utilizando a mesma equação, sendo:  $S(v_i)/f(i)$ , onde  $v(i)$  = valor c-p que varia de 1 (colonizador) a 5 (persistentes) do taxon "i" e  $f_i$  a frequência do gênero (i) na amostra.

Os nematóides foram classificados em grupos funcionais (YEATES et al., 1993) e combinados com a valoração c-p (BONGERS, 1990) para integrar os denominados grêmios funcionais indicadores (FERRIS et al, 2001). Isto permite o cálculo de três índices: enriquecimento (IE), estrutura (IS) e índice canal (IC) (FERRIS et al, 2001). O IE, contendo nematóides bacteriófagos e micófagos de crescimento rápido com valores c-p de 1 e 2, é calculado como:  $IE = 100 \times [E/(E+B)]$ . O IS, contendo nematóides, predadores e onívoros, de crescimento lento e baixa reprodução com valores c-p de 3, 4 e 5, é calculado como:  $IS = 100 \times [S/(S+B)]$ . O IC, indicador da via de decomposição predominante no solo que compara os tamanho das populações dos nematóides que se alimentam de bactérias com aqueles que se alimentam de fungos e foi calculado como:  $IC = 100 \times [(E_m/E_b) + E_m]$ , donde  $E_m$  é E dos

nematóides micófagos e Eb é E dos bacteriófagos. O componente E foi calculado como:  $E = S k_e n_e$ , onde  $k_e$  é o índice asignado para os grêmios Bacteriófagos cp-1 ( $Ba_1 = 3,2$ ), Fungívoros cp-2 ( $Fu_2 = 0,8$ ) e  $n_e$  é a abundancia desses grêmios. Os componente B e S foram calculados similarmente, considerando que os índices para  $Ba_3$  e  $Fu_3 = 1,8$ ;  $Ba_4$ ,  $Fu_4$ ,  $On_4$  e  $Ca_4 = 3,2$ ;  $Ba_5$ ,  $Fu_5$ ,  $On_5$  e  $Ca_5 = 5$ . Os índices indicados anteriormente permitem realizar o denominado perfil faunal, que é a representação gráfica bidimensional feito com os valores médios dos índices IE e IS (Figura 15).



**Figura 15.** Representação gráfica da condição estruturada e enriquecida da rede trófica do solo. Modificado de Ferris et al. (2001).

## 2.2. Análises dos Dados

Os resultados foram analisados utilizando o programa ANOVA do pacote estatístico Statistical Analysis Systems (SAS Inst. Inc., 1988). Para a análise estatística a variável Amostragem foi considerada independente, portanto os resultados foram analisados para cada época de amostragem. A densidade de nematóides foi transformada pela equação  $LN(X + 1)$ . Utilizou-se o teste de Diferença Mínima Significativa (Least Significant Difference LSD) para comparar médias entre tratamentos ( $P < 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS E DISCUSÃO

#### 3.1. Outono 2006

##### 3.1.1. Índices de maturidade

A população de dorilaimidos na comunidade é sensível às práticas culturais e assim utilizada como indicador de distúrbio ambiental. GOMES et al. (2003) relataram que uma alta percentagem de dorilaimidos (> 25%) representa pouca intervenção humana no campo, enquanto baixa percentagem, o contrário. Neste período de estudo, os valores da abundância de dorilaimidos foi de 7 % aproximadamente, indicando alto nível de intervenção humana. Além da falta de precipitações (Tabela 1), que gera uma condição de baixa umidade no solo a qual é adversa a todos os nematóides de vida livre, como bacteriófagos e onívoros predadores. Os índices que avaliam distúrbios, como o IM, IM2-5 e mIM, refletiram maior estabilidade no tratamento Past N120 com valores de 2,15, 2,57 e 2,31 respectivamente (Tabela 18).

Apesar dos índices indicadores de perturbação (IM, IM 2-5, mIM) não terem sido influenciados significativamente pelo sistema de plantio e a fertilização, os menores valores foram registrados nos tratamentos com manejo convencional, refletendo uma elevada atividade bacteriana (FRECKMAN & ETTEMA, 1993), e como consequência tiveram altas densidade de nematóides bacteriófagos o que consequentemente diminui os índices IM e mIM e consequentemente aumenta o IM2-5 (BONGERS et al, 1991).

O IPP apresentou valores elevados nos tratamentos (Tabela 18), o que tem relação com o cultivo antecessor que foi o trigo e onde registraram-se as maiores densidades médias de nematóides fitófagos ectoparasitos (*Hoplolaimus*, *Helicotylenchus*, *Coslenchus*, *Psilenchus* e *Tylenchus*) e o endoparasito *Pratylenchus*. Essa proliferação de nematóides fitófagos sugere uma grande produção radicular, e uma melhor fertilidade no solos (BONGERS, 1990). Além disso, o IPP comportou-se inversamente ao IM, coincidindo com o relato de BONGERS et al. (1997)

##### 3.1.2. Índices da rede trófica

Dos índices que avaliam a rede trófica, o índice de estrutura (IS) foi influenciado significativamente pelo sistema de plantio (Tabela 19). Pode-se perceber que os tratamentos Past e PD1 apresentaram o maior valor de IS (57 e 50) (Figura 16). Contudo, si analisamos os valores obtidos do índice IE, que foram em uma escala de 75 - 82, refletem o predomínio de nematóides bacteriófagos (Ba-1) (Tabela 3), indicadores de decomposição rápida da matéria orgânica mediada por bactérias (SÁNCHEZ-MORENO et al., 2008) como também excelentes indicadores de resposta bacteriana a baixa relação de C:N (BONGERS & BONGERS, 1998).

**Tabela 18.** Índices de maturidade das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa austral (Balcarce, Argentina), para outono de 2006.

Tratamentos	índices			
	IM	IM2-5	IPP	mIM
Past N0	1,71	2,27	2,19	2,16
Past N120	2,15	2,57	2,48	2,31
PC1 N0	1,65	2,13	2,60	2,04
PC1 N120	1,68	2,16	2,67	2,17
PD1 N0	1,60	1,87	2,60	1,96
PD1 N120	1,91	2,44	2,63	2,25
PC2 N0	1,47	2,08	2,76	1,94
PC2 N120	1,55	2,00	2,54	1,88
PD2 N0	1,54	2,12	2,67	1,90
PD2 N120	1,75	2,35	2,48	1,95

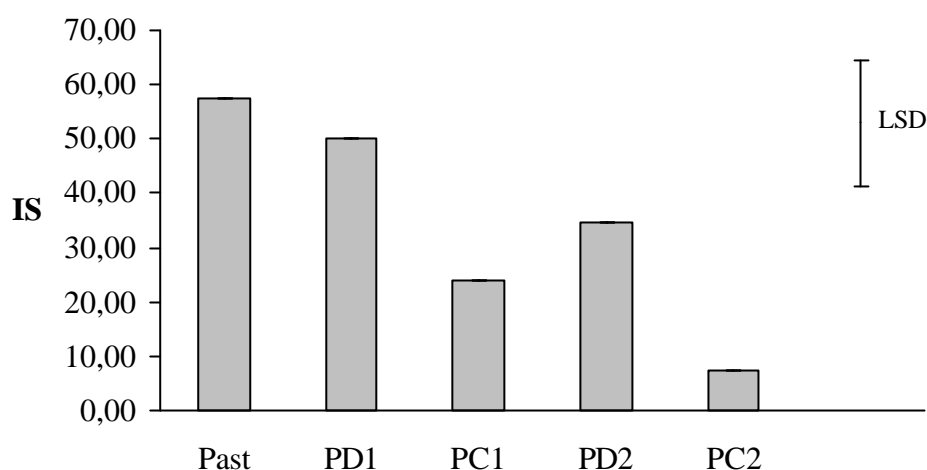
IM: Índices de maturidade; IM2-5: Índice de maturidade excluindo o cp1; IPP: Índices de parasitas de plantas; mIM: Índices de maturidade modificado. Todos os índices são valores médios de três repetições. Past= pastagem; PD1= plantio direto–rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização.

**Tabela 19.** Probabilidades para os índices de Enriquecimento (IE), Estrutura (IS) e Canal (C) no outono de 2006, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).

Fontes de variação	Probabilidades		
	IE	IS	IC
Sistema de Plantio	0,812	<b>0,002</b>	0,772
Fertilização	0,464	0,760	0,486
Sistema x Fertilização	0,838	0,511	0,750

Em negrita destacam-se os efeitos puros significativos ( $P = 0,05$ )





**Figura 16.** Índice de Estrutura (IS), no outono de 2006 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem.

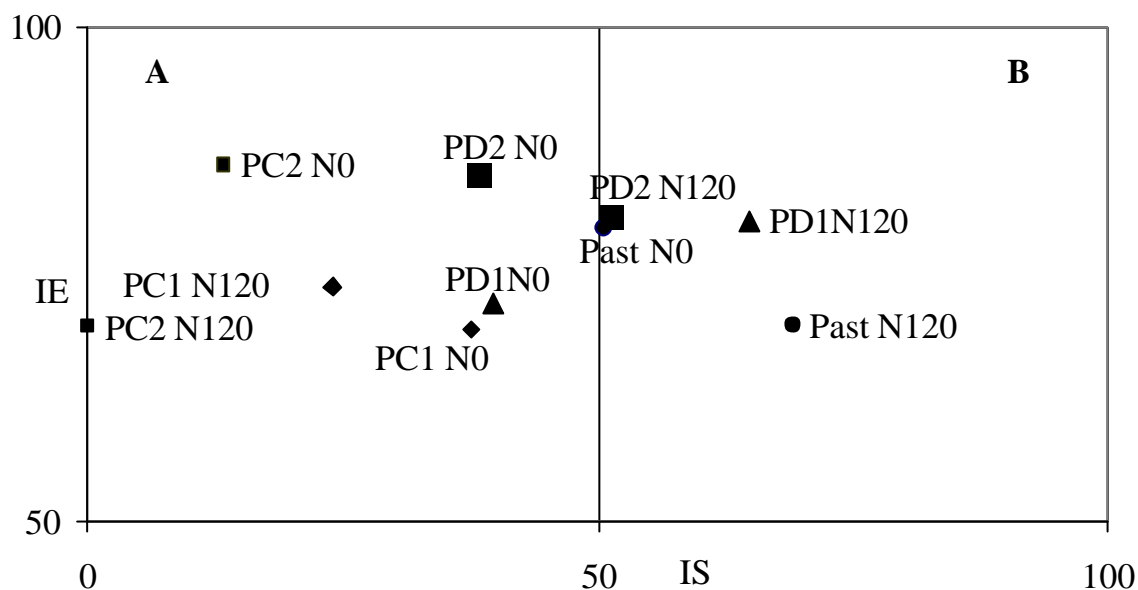
Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ ).

### 3.1.3. Perfil faunal

A representação gráfica bidimensional, do perfil faunal, com os valores médios dos índices IE e IS sobre as coordenadas Y e X, respectivamente, permite determinar si a comunidade estudada se enquadra em alguns dos quadrantes explicados por FERRIS et al. (2001) que se caracterizam assim: enriquecida mas não estruturada (quadrante A), enriquecida e estruturada (quadrante B), com recursos limitados e estruturada (quadrante C), e com recursos empobrecidos com mínima estrutura (quadrante D).

No outono, o perfil faunal do solo (Figura 17), refletiu a maior variação dos valores no eixo do IS, em concordância com o análises de variância (Figura 14). Os tratamentos com fertilização e plantios conservacionistas, como o plantio direto, apresentaram uma rede trófica enriquecida e estruturada, com elevados valores de IE e IS (SANCHEZ-MORENO et al., 2008) colocando-os no quadrante B. Enquanto os tratamentos sob sistemas convencionais de cultivo, com e sem fertilização nitrogenada, ficaram no quadrante A (rede trófica enriquecida e não estruturada). Estes sistemas alteram a biodiversidade e abundância dos nematóides (SANCHEZ-MORENO et al., 2006) e no geral dismínuem (suprimen) as taxas de nematóides onívoros e predadores (TENUTA & FERRIS, 2004; SANCHEZ-MORENO & FERRIS, 2007) que estão envolvidos no aumento do valor do IS (FERRIS et al., 2001).

Quanto ao IC, índice indicador da via de decomposição (FERRIS et al., 2001), os valores foram relativamente baixos para todos os tratamentos (44 - 16,20) indicando prevalência de bactérias na decomposição da matéria orgânica do solo, mesma indicação que fizeram as relações  $m/b$  e  $m/(m + b)$  do capítulo anterior.



**Figura 17.** Perfil faunal para os dez tratamentos estudados no outono 2006 (notar que a escala dos eixos foram ajustadas para facilitar a comparação): Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização.

### 3.2. Inverno 2006

#### 3.2.1. Índices de maturidade

Na Tabela 18 são apresentados os índices que avaliam distúrbios, o IM, mIM, refletiram maior estabilidade no tratamento Past N0 com valores de (3,38) e (2,89) respectivamente. Quanto aos tratamentos sob manejo convencionais, PC1 N0 apresentou os menores valores nesses índices (1,66 e 2,20 respectivamente) (Tabela 20), esses valores podem ser explicados pelas atividades agrícolas realizadas sobre esse tratamentos (ex. aração), que como foi comentado anteriormente gera condições para a proliferação de bactérias e conseqüentemente de nematóides bacteriófagos, esse aumento na densidade tem a capacidade de diminuir o valor do IM (BONGERS & FERRIS, 1999).

A abundância de nematóides dorylaimidos apresentou valores baixos, mas superiores ao outono 2006, sendo de 10 % aproximadamente o aumento. Segundo GOMES et al. (2003), a população de dorylaimidos na comunidade é sensível às práticas culturais e assim utilizada como indicador de distúrbio ambiental. No caso particular do inverno a baixa densidade de dorylaimidos poderia ser conseqüência das atividades agrícolas desenvolvidas nos diferentes tratamentos sob manejo convencional (PC1 e PC2), como também as condições ambientais, principalmente a baixa umidade no solo do período estudado.

O IPP apresentou-se elevado nos diferentes tratamentos. O maior valor foi no tratamento PC1 N120 esse valor é reflexo da elevada densidade relativa de *Hoplolaimus* e *Helicotylenchus* (c-p 3) o primeiro só presente nos tratamentos com rotação de pastagens e o segundo em todos os tratamentos estudados. Os dois nematoides são comumente associados às pastagens na região do Pampa Austral (CHAVES et al, 1998). Aqui, como aconteceu no outono, e como relatou BONGERS et al. (1997), também apresentou-se inversamente ao IM.

**Tabela 20.** Índices de maturidade das comunidades de nematóides nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa austral (Balcarce, Argentina), para o inverno de 2006.

Tratamentos	índices			
	IM	IM2-5	IPP	mIM
Past N0	3,38	3,41	2,69	2,89
Past N120	3,00	3,43	2,52	2,73
PC1 N0	1,66	2,30	2,77	2,20
PC1 N120	2,16	3,07	2,82	2,44
PD1 N0	2,79	2,89	2,50	2,64
PD1 N120	2,59	2,92	2,76	2,69
PC2 N0	1,89	2,67	2,78	2,31
PC2 N120	1,72	2,46	2,74	2,31
PD2 N0	2,39	2,63	2,69	2,37
PD2 N120	2,34	2,85	2,65	2,47

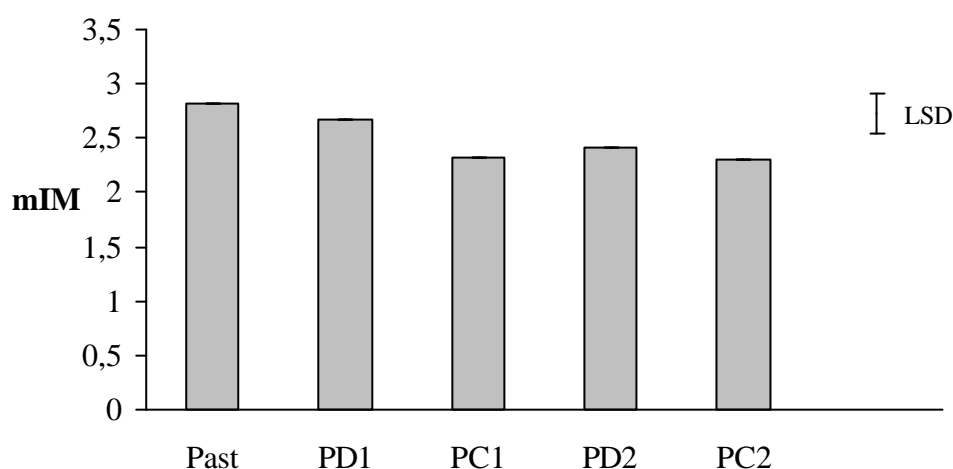
IM: Índices de maturidade; IM2-5: Índice de maturidade excluindo o cp1; IPP: Índices de parasitas de plantas; mIM: Índices de maturidade modificado. Todos os índices são valores médios de três repetições. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização.

No inverno o índice de maturidade modificado (mIM) foi afetado significativamente pelos sistemas de plantio (Tabela 21). O Past. apresentou um valor de mIM maior do que PC1 e PC2 (Figura 17). Indicando a elevada perturbação que apresentam os tratamentos com plantio convencional. Além disso a característica do índice, que involucra em seu cálculo aos nematóides fitófagos, de elevada presença nesta época, permite ao Past. obter um maior valor do índice. Por outro lado, Enquanto o índice IE foi afetado significativamente pelo sistema de plantio e a fertilização, o IC foi influenciado só pela fertilização (Tabela 22).

**Tabela 21.** Probabilidades para os índices de perturbação: de Yeates (mIM), de Bongers (IM), de enriquecimento (IM2-5), de parasitas de plantas (IPP) no inverno de 2006, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).

Fontes de variação	Probabilidades			
	mIM	IM	IM 2-5	IPP
Sistema de Plantio	<b>0,013</b>	0,914	0,433	0,263
Fertilização	0,754	0,763	0,674	0,558
Sistema x Fertilização	0,763	0,846	0,872	0,846

Em negrita destacam – se os efeitos puros significativos ( $P = 0,05$ )



**Figura 18.** Índice de maturidade modificado (mIM), no inverno de 2006 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto–rotação pastagens; PC1= plantio convencional–rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0,05$ )

### 3.2.2. Índices da rede trófica

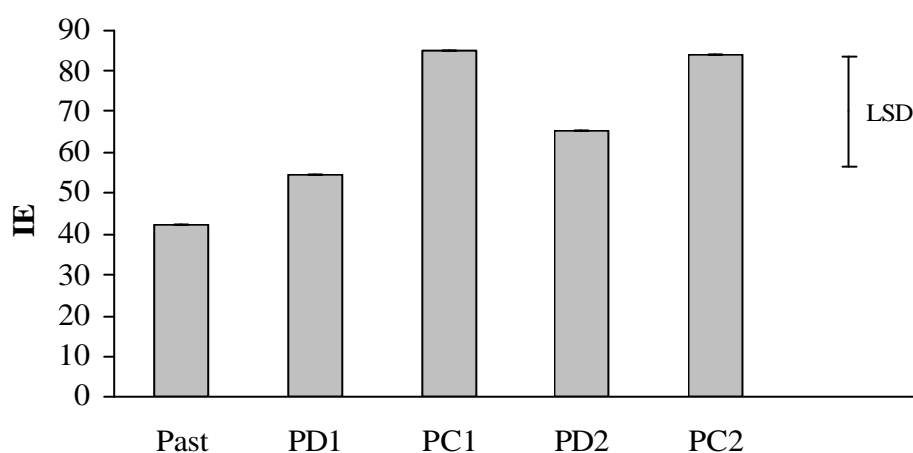
Dos índices que avaliam a rede trófica, o IE apresentou-se maior nos tratamentos PC1 e PC2 (Figura 18), conseqüência da maior presença de nematóides dos grupos oportunistas de enriquecimento, como são bacteriófagos c-p 1 (Ba1= *Rhabditis*, *Mesorhabditis*, *Panagrolaimus* e *Butlerius*) e micófagos c-p2 (Fu2= *Aphelenchus*, *Paraphelenchus* e *Aphelenchoides*), pelas atividades agrícolas realizadas. Enquanto os valores dos índices IS (49,11 e 45,41) e IC (22,00 e 17,67) foram os menores para PC1 e PC2. Esses resultados corroboram os do IE, já que permitem inferir que a via de decomposição esta sendo realizada principalmente pela comunidade bacteriana. Segundo NEHER et al., (2005), só valores maiores dos índices IC IE e IS refletem uma predominância de fungos na via de decomposição. Por outro lado, o IE foi maior nos tratamentos que tiveram fertilização nitrogenada (Figura 19) refletindo a presença de nematóides bacteriófagos, enquanto o IC foi maior nos tratamentos sem fertilização, indicando prevalência na decomposição da materia orgânica pelos fungos (Figura 20). Esses resultados são coincidentes com SÁNCHEZ-

MORENO (2008) que relatou alta ocorrência de nematóides bacteriófagos em campos com baixa relação C/N e baixos valores para o índice IC. Nossos resultados indicariam que existe um caminho diferencial na degradação da matéria orgânica, dependendo da presença ou ausência da fertilização nitrogenada.

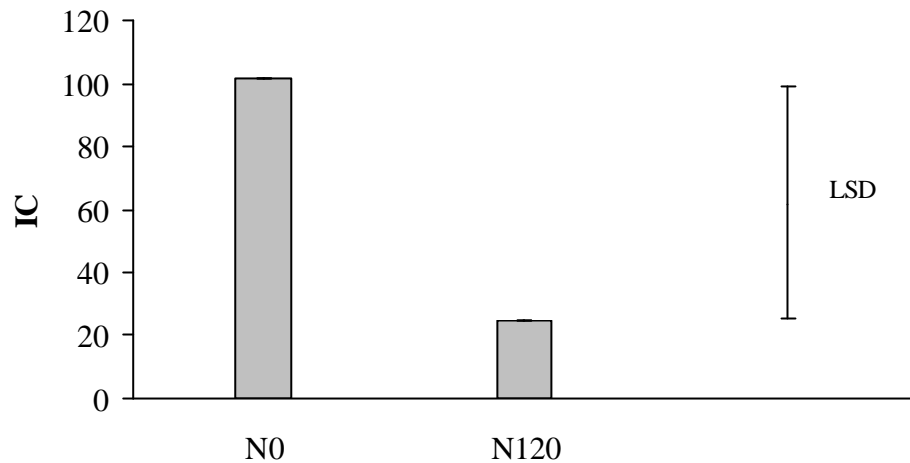
**Tabela 22.** Probabilidades para os índices de Enriquecimento (IE), Estrutura (IS) e Canal (C) no inverno de 2006, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).

Fontes de variação	Probabilidades		
	IE	IS	IC
Sistema de Plantio	<b>0,013</b>	0,116	0,213
Fertilização	<b>0,039</b>	0,207	<b>0,040</b>
Sistema x Fertilização	0,745	0,381	0,459

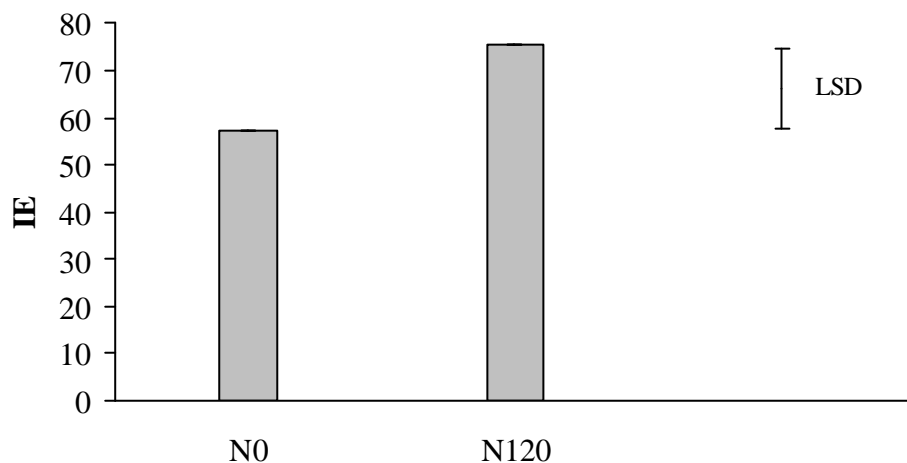
Em negrita destacam - se os efeitos puros significativos ( $P = 0,05$ )



**Figura 19.** Índice de enriquecimento (IE), no inverno de 2006 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0,05$ )



**Figura 20.** Índice Canal (IC), no inverno de 2006 para um solo do pampa austral, em função da fertilização nitrogenada. N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ )



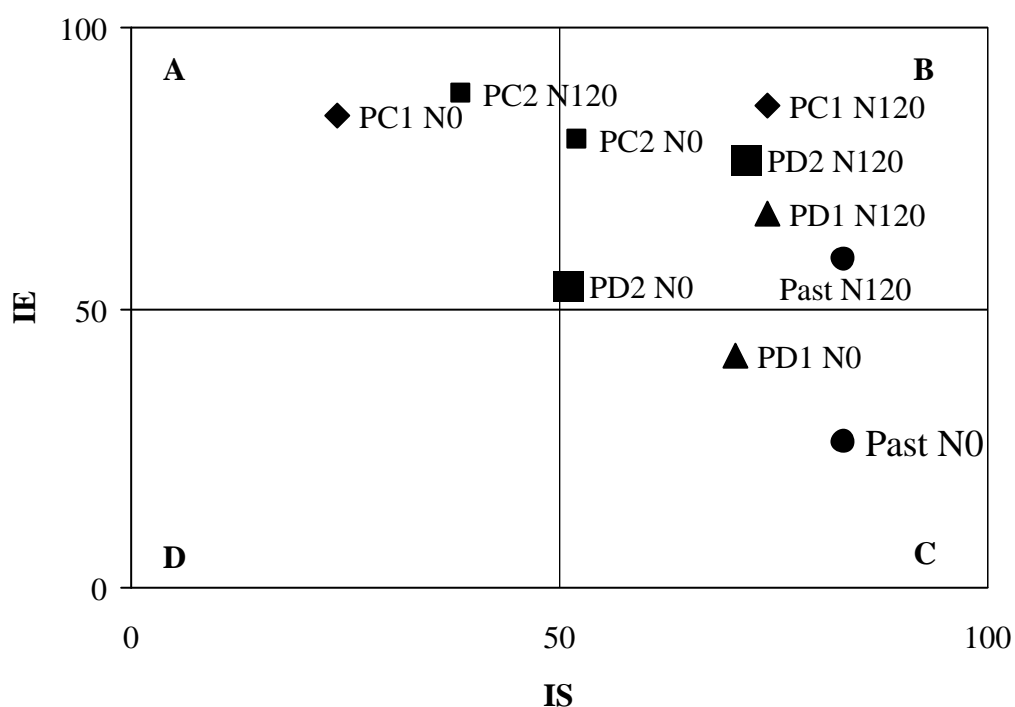
**Figura 21.** Índice de enriquecimento (IE), no inverno de 2006 para um solo do pampa austral, em função da fertilização nitrogenada. N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ )

### 3.2.3. Perfil faunal

A representação gráfica bidimensional, do perfil faunal, com os valores médios dos índices IE e IS sobre as coordenadas Y e X, respectivamente, permite determinar se a comunidade estudada se enquadra em alguns dos quadrantes explicados por FERRIS et al. (2001) que se caracterizam assim: enriquecida mas não estruturada (quadrante A), enriquecida e estruturada (quadrante B), recursos limitados e estruturada (quadrante C), o recursos empobrecidos com mínima estrutura (quadrante D) (FERRIS et al., 2001).

Para o inverno, a representação gráfica do perfil faunal (Figura 21). Mostra no geral os tratamentos sob sistemas convencionais de cultivo (PC1 e PC2) no quadrante A, com a exceção do PC1N120. Enquanto os tratamentos sob plantio direto no quadrante B,

apresentando elevados valores para IE e IS. Os tratamentos PD1N0 e Past. foram os tratamentos com a rede trófica mais estruturada, se bem que isto é relativo, já que essa localização no quadrante C, é consequência da menor presença de nematóides bacteriófagos e alta presença de micófitos do que a uma alta densidade de omnívoros-predadores. O fato dos sistemas convencionais ficarem no quadrante A, reflete alta densidade de nematóides bacteriófagos, que são estimulados pelas práticas de cultivo, como aconteceu neste trabalho e também foi reportado por WARDLE et al. (1995), e que geram um baixo valor do IS, como relatado por BERKELMANS et al, (2003) e van DIEPINGEN et al., (2006). Os tratamentos com fertilização ficaram no quadrante B, apresentando uma rede trófica enriquecida em estruturação. O IC dos tratamentos sob sistemas conservacionistas, como o plantio direto, apresentaram via de decomposição por fungos, enquanto os sistemas convencionais a via de decomposição foi a bacteriana. Além disso o índice foi influenciado pela fertilização (Figura 20), o que favoreceu as populações bacterianas e consequentemente aumentando os bacteriófagos, o que tem um efeito de diminuição do valor do índice (FERRIS et al, 2001),



**Figura 22.** Perfil faunal para os dez tratamentos estudados no inverno de 2006: Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização.

### 3.3. Verão 2007

#### 3.3.1. Índices de maturidade

Na tabela 21 são apresentados os índices que avaliam distúrbios, como o IM, mIM, que refletiram menor perturbação no tratamento Past. N120 com valores de 3,77 e 2,99 respectivamente. Enquanto o tratamento PC2 N120 apresentou os menores valores nesses índices 1,64 e 2,02 respectivamente (Tabela 23) evidenciando a influência da fertilização e o manejo. O IM apresenta decréscimo por enriquecimento e poluição ambiental pela

proliferação de bacteriófagos c-p = 1 (BONGERS et al., 1995; BONGERS & KORTHALS, 1993). O IPP tende a responder em ambientes enriquecidos de forma inversa ao IM (BONGERS et al., 1997). Neste estudo os valores do IPP foram maiores nos tratamentos com fertilização e sob plantio direto (Tabela 23). Por outra parte, neste período de estudo, os valores da abundância de dorilaimídeos representou aproximadamente 16 % do total, indicando, intervenção antrópica.

**Tabela 23.** Índices ecológicos médios das comunidades de nematóides e índices de perturbação nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa austral (Balcarce, Argentina), para o verão de 2007.

Tratamentos	índices			
	IM	IM2-5	IPP	mIM
Past N0	3,66	3,79	2,64	2,98
Past N120	3,77	4,05	2,51	2,99
PC1 N0	2,04	3,33	2,75	2,26
PC1 N120	1,97	3,11	2,75	2,34
PD1 N0	2,94	3,38	2,41	2,74
PD1 N120	3,44	4,02	2,70	3,11
PC2 N0	1,89	2,61	2,33	2,11
PC2 N120	1,64	2,87	2,43	2,02
PD2 N0	2,78	2,98	2,39	2,53
PD2 N120	2,10	2,55	2,67	2,38

IM: Índice de maturidade; IM2-5: Índice de maturidade excluindo o c-p1; IPP: Índices de parasitas de plantas; mIM : Índices de maturidade modificado de Yeates (1994). Todos os índices são valores médios de três repetições. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização.

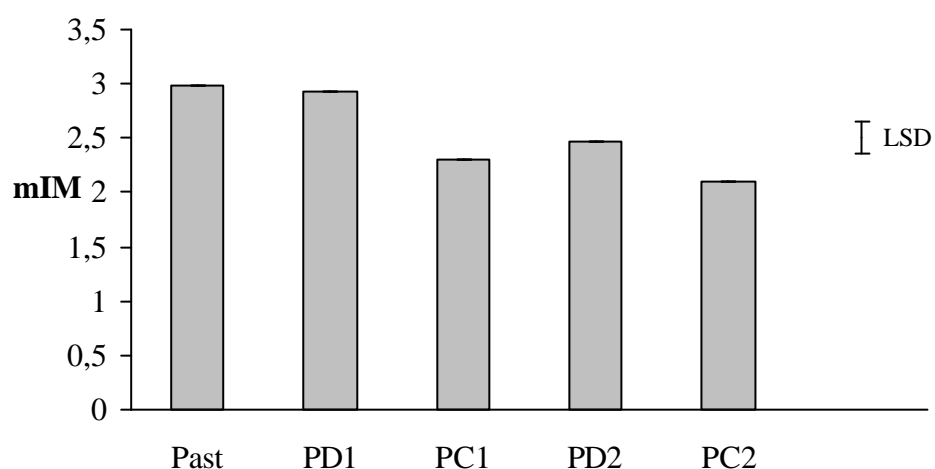
Os índices que indicam perturbação foram significativamente afetados pelos sistemas de plantio (Tabela 24). Para os índices mIM os tratamentos Past. e PD1 apresentaram valores maiores do que os sistemas convencionais (PC1 e PC2) (Figuras 22). para IM2-5, o Past. foi maior significativamente do PC1, PD2 e PC2, enquanto PD1 foi maior do que PD2 e PC2 (figura 23). Para o IM, o Past. e PD1 apresentaram valores maiores do que os demais tratamentos, enquanto PD1 foi diferente do PD2, PC1 e PC2 (Figura 24). Esses resultados refletem a maior perturbação nos tratamentos com elevada intervenção antrópica, enquanto os tratamentos sob plantio direto e com rotação com pastagens representaram ambientes estáveis evidenciando os benefícios do plantio direto (STUDDERT & ECHEVERRÍA, 2000) e das rotações com pastagens (STUDDERT et al., 1997).



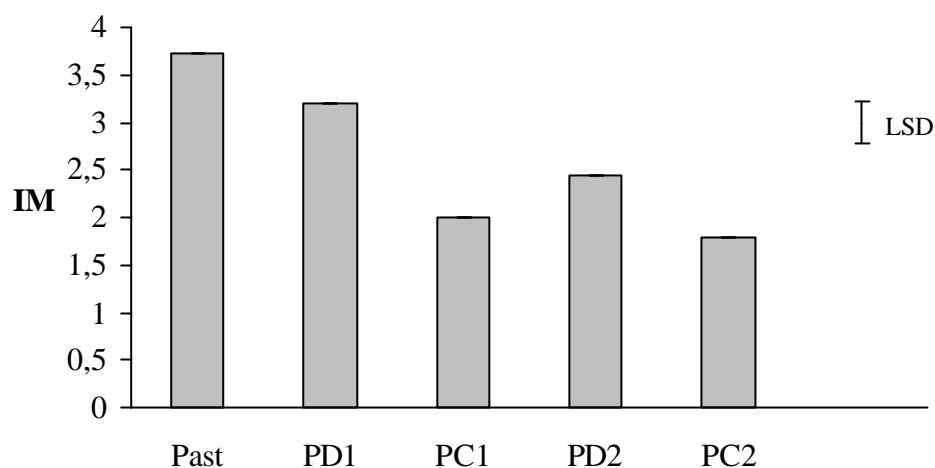
**Tabela 24.** Probabilidades para os índices de perturbação: de Yeates (mIM), de Bongers (IM), de enriquecimento (IM 2-5), de parasitas de plantas (IPP) no verão de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).

Fontes de variação	Probabilidades			
	mIM	IM	IM 2-5	IPP
Sistema de Plantio	<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0002</b>	<b>0,1045</b>
Fertilização	0,601	0,574	0,496	0,193
Sistema x Fertilização	0,401	0,119	0,220	0,411

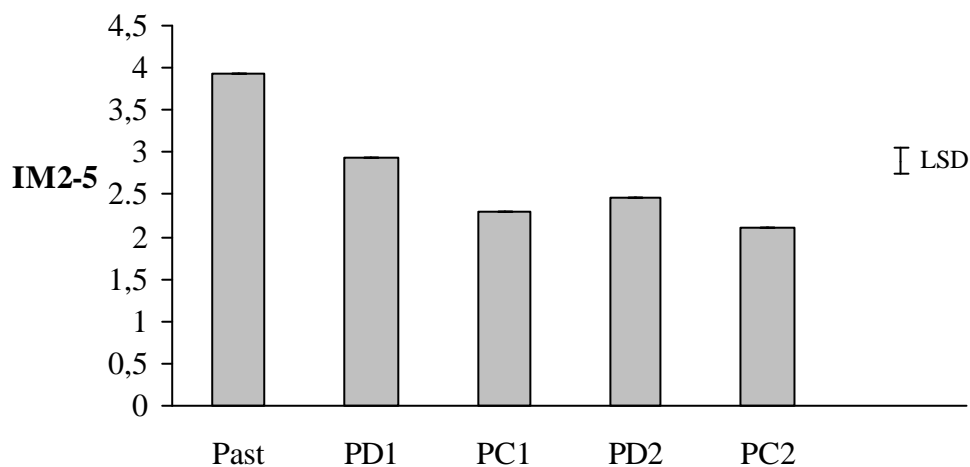
Em negrita destacam – se os efeitos puros significativos ( $P = 0,05$ )



**Figura 23.** Índice de maturidade modificado (mIM), no verão de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto–rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0,05$ )



**Figura 24.** Índice de maturidade (IM), no verão de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05)



**Figura 25.** Índice de enriquecimento (IM2-5), no verão de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05)

### 3.3.2. Índices da rede trófica

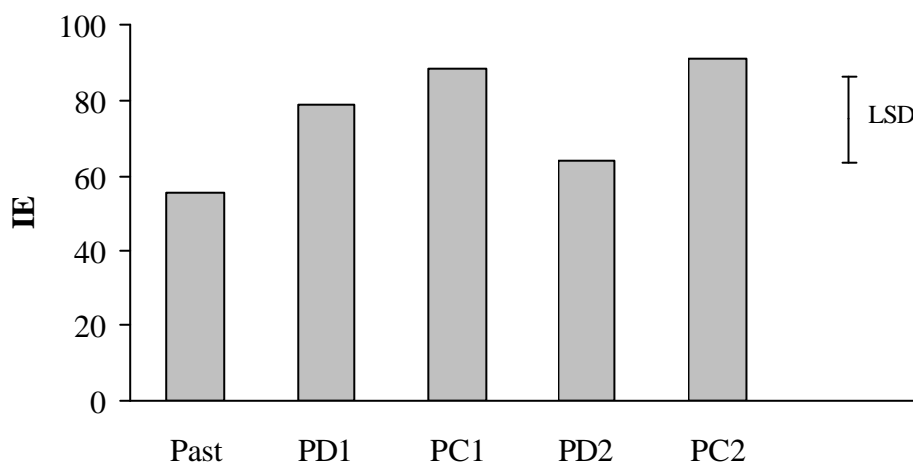
Dos índices que avaliam a cadeia alimentar (IE e IS) foram afetados significativamente pelo sistema de plantio (Tabela 25). O IE apresentou-se maior nos tratamentos LC2 e LC1 (Figura 25), refletindo a maior presença de nematóides dos grupos associados aos microorganismos primários na degradação da matéria orgânica, como

bacteriófagos  $\epsilon$ -p1 (Ba1) e micófitos  $\epsilon$ -p2 (Fu2), concordando com WARDLE (1995) nos estudos para inferir a resiliência dos organismos do solo ao preparo do solo, referido à estimulação dos nematóides bacteriófagos e micófitos pelos cultivos. Enquanto para o IS os tratamentos Past. e PD1 apresentaram valores significativamente maiores do que PD2 e PC1 (Figura 26), coincidindo com SANCHEZ-MORENO et al, (2006) que acharam que tratamentos com períodos de pousio apresentaram uma maior e mais estruturada rede trófica do solo.

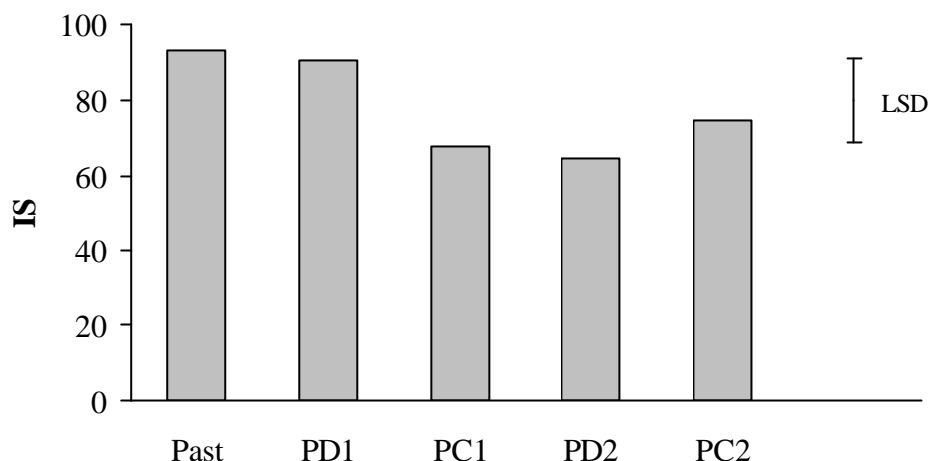
**Tabela 25.** Probabilidades para os índices de Enriquecimento (IE), Estrutura (IS) e Canal (C) no verão de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).

Fontes de variação	Probabilidades		
	IE	IS	IC
Sistema de Plantio	<b>0,017</b>	<b>0,045</b>	0,072
Fertilização	0,745	0,097	0,295
Sistema x Fertilização	0,295	0,408	0,551

Em negrita destacam – se os efeitos puros significativos ( $P = 0,05$ )



**Figura 26.** Índice de enriquecimento, no verão de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto–rotação pastagens; PC1= plantio convencional–rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ )

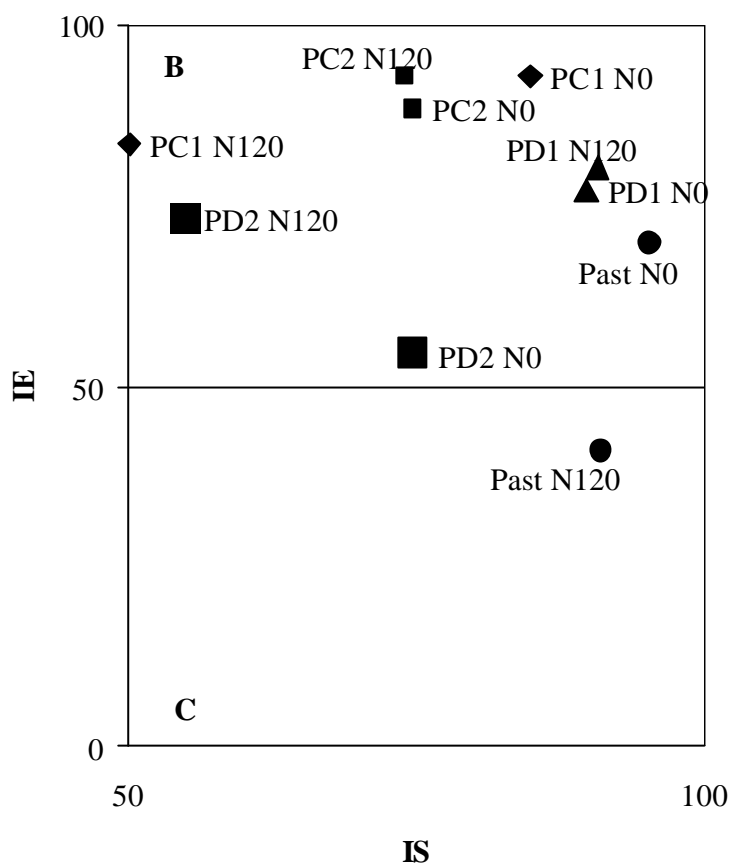


**Figura 27.** Índice de estrutura (IS), no verão de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ )

### 3.3.3. Perfil faunal

A representação gráfica, bidimensional, do perfil faunal indica se a comunidade em estudo se localiza nos quadrantes determinados por FERRIS et al. 2001, que se caracterizam assim: enriquecida mas não estruturada (quadrante A), enriquecida e estruturada (quadrante B), com recursos limitados e estruturada (quadrante C), e recursos empobrecidos com mínima estrutura (quadrante D).

Para o verão o perfil da rede trófica do solo mostra os valores médios dos índices IE e IS sobre a coordenada X e dos IE sobre a coordenada Y (Figura 27). Todos os tratamentos ficaram no quadrante B, indicando uma rede trófica enriquecida e estruturada exceto o Past N120 que ficou no quadrante C, pela elevada presença de nematóides onívoros-predadores e muito baixa de nematóides bacteriófagos. No geral os tratamentos sob sistemas convencionais de cultivo apresentaram os maiores valores do IE, enquanto os tratamentos com sistemas conservacionistas e rotações com pastagens os menores valores. Evidentemente a implantação de pastagens mistas nos tratamentos PC1 e PD1 foi uma interrupção na perturbação física, favorecendo os nematóides onívoros-predadores, desde sua sensibilidade às perturbações físicas (TENUTA & FERRIS, 2004) e assim permitindo obter valores maiores do IS e apresentando redes tróficas mais complexas e longas (SANCHEZ-MORENO et al., 2009). Quanto ao IC, no geral a via de decomposição foi pela via bacteriana, com exceção do tratamento PD2 N0 que representou uma via de degradação pelos fungos.



**Figura 28.** Perfil faunal para os dez tratamentos estudados no verão de 2007 (notar que a escala dos eixos foram ajustados para facilitar a comparação): Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização.

### 3.4. Primavera 2007

#### 3.4.1. Índices de maturidade

Na tabela 26 são apresentados os índices que avaliam distúrbios, como o IM, mIM, que refletiram maior estabilidade no tratamento PC1 N120 com valores de 3,49 e 2,18 respectivamente. Enquanto o tratamento PD2 N120 apresentou os menores valores nesses índices 1,95 e 2,18 respectivamente (Tabela 26). Os elevados valores do índice IM2-5, relativos ao IM, indicam uma alta presença de nematóides c-p1 (Ba-1). Ainda, neste período determinou-se uma alta percentagem de dorilaimídeos (19,4 %), a maior do estudo, representativo da maturidade de alguns tratamentos estudados.

**Tabela 26.** Índices médios de perturbação nos diferentes tratamentos, em solos do Pampa austral (Balcarce, Argentina), para a primavera de 2007.

Tratamentos	índices			
	IM	IM2-5	IPP	mIM
Past N0	2,92	3,20	2,51	2,73
Past N120	3,05	3,31	2,51	2,79
PC1 N0	2,70	3,29	2,80	2,78
PC1 N120	3,49	4,05	2,93	3,13
PD1 N0	1,99	2,32	2,78	2,34
PD1 N120	2,66	3,47	2,70	2,69
PC2 N0	2,81	3,51	2,88	2,85
PC2 N120	2,81	3,67	2,83	2,81
PD2 N0	2,19	2,74	2,63	2,33
PD2 N120	1,95	3,16	2,66	2,18

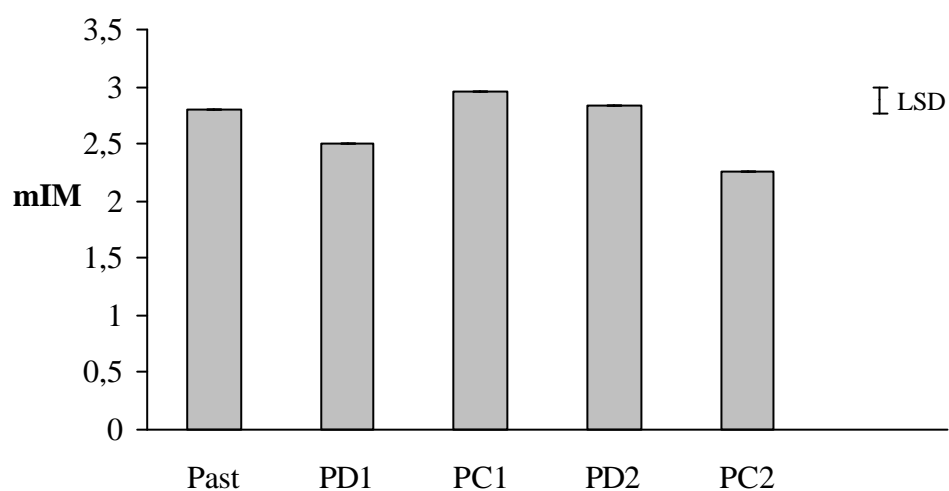
IM: Índice de maturidade; IM2-5: Índice de maturidade excluindo o c-p1; IPP: Índices de parasitas de plantas; mIM : Índices de maturidade modificado de Yeates (1994). Todos os índices são valores médios de três repetições. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização.

Os índices indicadores de perturbação foram significativamente afetados pelos sistemas de plantio (Tabela 27). Para os índices mIM os tratamentos PC1, PD2 e o Past. apresentaram valores maiores do que PD1 e PC2 (Figura 28) esses resultados são devidos a que o PD1 foi o de maior presença de nematóides bacteriófagos (*Alaimus* e *Amphidelus*), enquanto o PC2 o de menor presença de fitonematóides. Para o IM2-5, os tratamentos PC1 e PD2 apresentaram valores maiores do que PC2 e PD1 enquanto o Past. apresentou valores intermediários (Figura 29) aqui o grupo que faz a diferença, são os micófagos, sendo os tratamentos PC1 e PD2 os que tem menor presença desse grupo funcional. Para o IM o tratamento PC1 e Past diferenciaram-se significativamente apresentando valores maiores do que os tratamentos PD1 e PC2 (Figura 30) estes últimos tratamentos apresentaram as maiores densidades de nematóides bacteriófagos o que reduz o valor do IM (BONGERS & KORTHALS, 1993). Finalmente para o IPP os tratamentos PC1 e PD2 apresentaram valores significativamente maiores do que os tratamentos PD1, PC2 e Past., (Figura 31) isto é assim pela alta densidade de nematóides fitófagos registrados em PC1 e PD2.

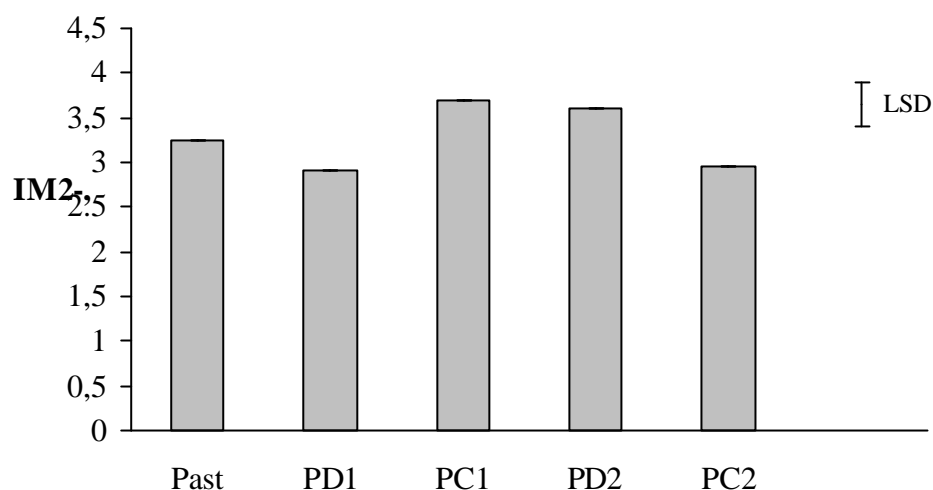
**Tabela 27.** Probabilidades para os índices de perturbação: de Yeates (mIM), de Bongers (IM), de enriquecimento (IM 2-5), de parasitas de plantas (IPP) na primavera de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).

Fontes de variação	Probabilidades			
	mIM	IM	IM 2-5	IPP
Sistema de Plantio	<b>0,0001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,012</b>	<b>0,0001</b>
Fertilização	0,115	0,09	<b>0,003</b>	0,748
Sistema x Fertilização	0,09	0,197	0,205	0,211

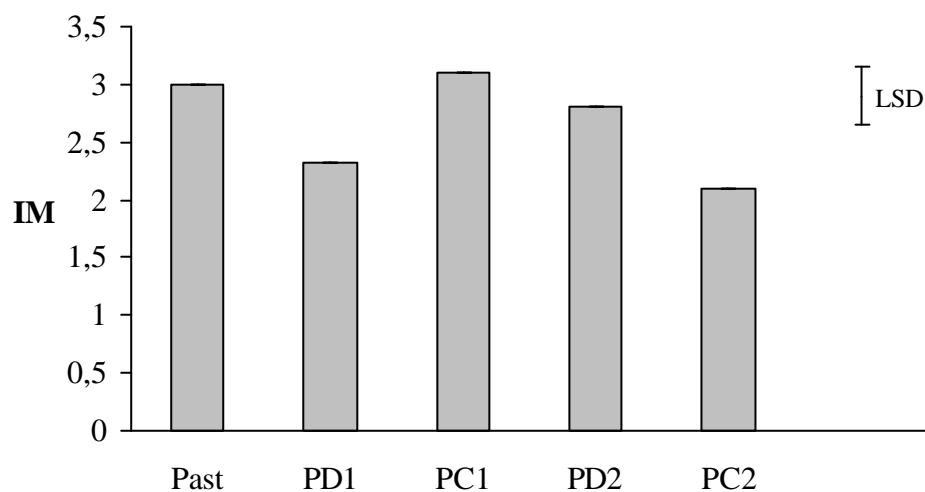
Em negrita destacam – se os efeitos puros significativos ( $P = 0,05$ )



**Figura 29.** Índice de maturidade modificado (mIM), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto–rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0,05$ )

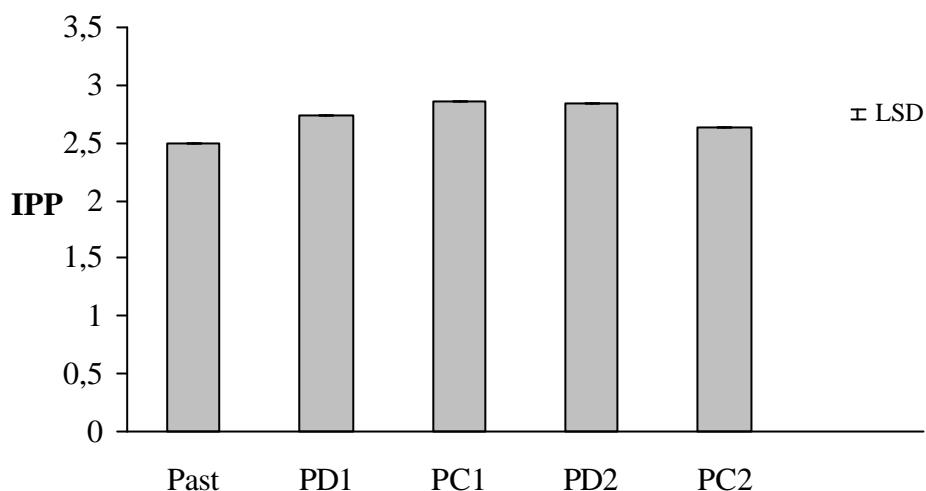


**Figura 30.** Índice de enriquecimento (IM2-5), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05)



**Figura 31.** Índice de maturidade (IM), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05)





**Figura 32.** Índice de parasitas de plantas (IPP), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ )

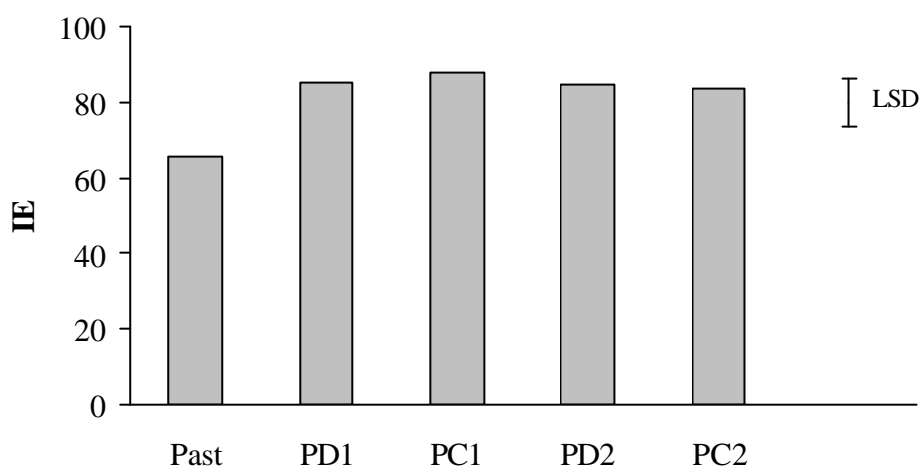
### 3.4.2. Índices da rede trófica

Dos índices que avaliam a cadeia alimentar o IE e o IC foram afetados significativamente pelo sistema de plantio e pela fertilização (Tabela 28). Enquanto o IS foi afetado significativamente pela interação do sistema de plantio e a fertilização. O IE apresentou-se com um valor menor no tratamento Past. (Figura 32), refletindo a menor presença de nematóides dos grupos associados aos microorganismos primários na degradação da matéria orgânica, como bacteriófagos c-p1 (Ba1) e micófitos c-p2 (Fu2), enquanto para o IC o tratamento Past. apresentou o valor significativamente maior do índice (Figura 33) indicando, pelo seu valor um equilíbrio entre as vias (bacteriana e fúngica) de decomposição da matéria orgânica. Quanto à fertilização, o IE foi superior no nível de 120 Kg de N e o IC apresentou-se maior na condição de N0 (Figuras 34 e 35) estes resultados são lógicos pelo efeito dos fertilizantes na estimulação da microflora do solo e pela conseqüente influência na nematofauna, principalmente os bacteriófagos. O índice de estrutura (IS) foi significativamente maior, na condição N0, para os tratamentos PD2, Past. e PC1 do que PD1 (Figura 36).

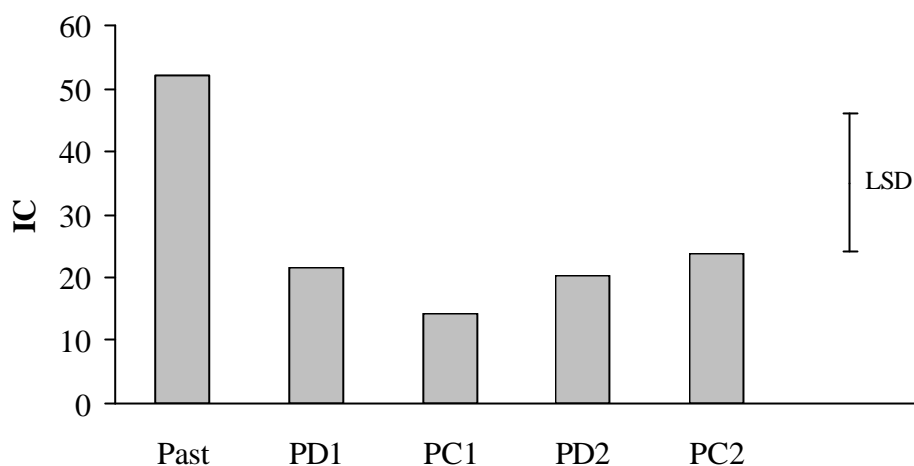
**Tabela 28.** Probabilidades para os índices de Enriquecimento (IE), Estrutura (IS) e Canal (C) na primavera de 2007, no Pampa Austral (Fonte de Variação: Sistema de plantio (5 níveis: Pastagem, plantio direto 1, plantio direto 2, lavoura convencional 1, lavoura convencional 2); fertilização (a dois níveis (N0 e N120)).

Fontes de variação	Probabilidades		
	IE	IS	IC
Sistema de Plantio	<b>0,011</b>	<b>0,026</b>	<b>0,017</b>
Fertilização	<b>0,019</b>	<b>0,001</b>	<b>0,030</b>
Sistema x Fertilização	0,408	<b>0,036</b>	0,551

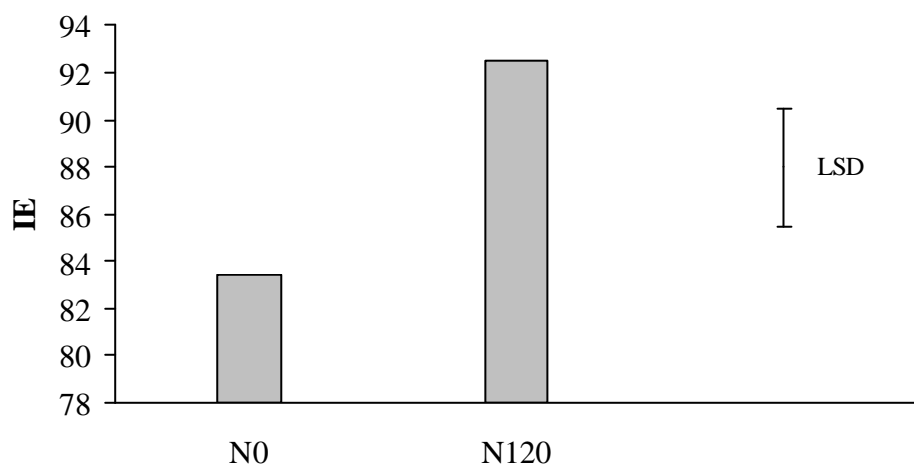
Em negrito destacam – se os efeitos puros significativos ( $P = 0,05$ )



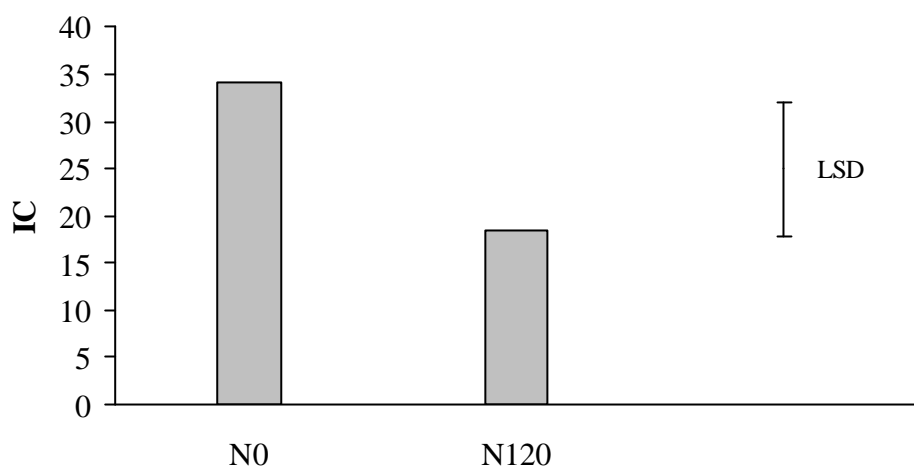
**Figura 33.** Índice de enriquecimento (IE), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto–rotação pastagens; PC1= plantio convencional–ro tação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0,05$ )



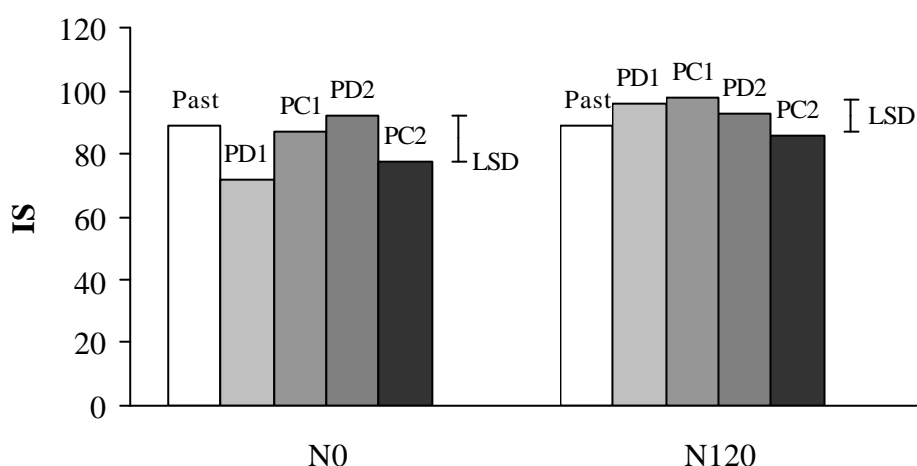
**Figura 34.** Índice canal (IC), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos sistemas de plantio e a pastagem. Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05)



**Figura 35.** Índice de enriquecimento (IE), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos níveis de fertilização. N120= com fertilização; N0= sim fertilização. A barra indica LSD (P< 0.05)



**Figura 36.** Índice canal (IC), na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, em função dos níveis de fertilização. N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ )



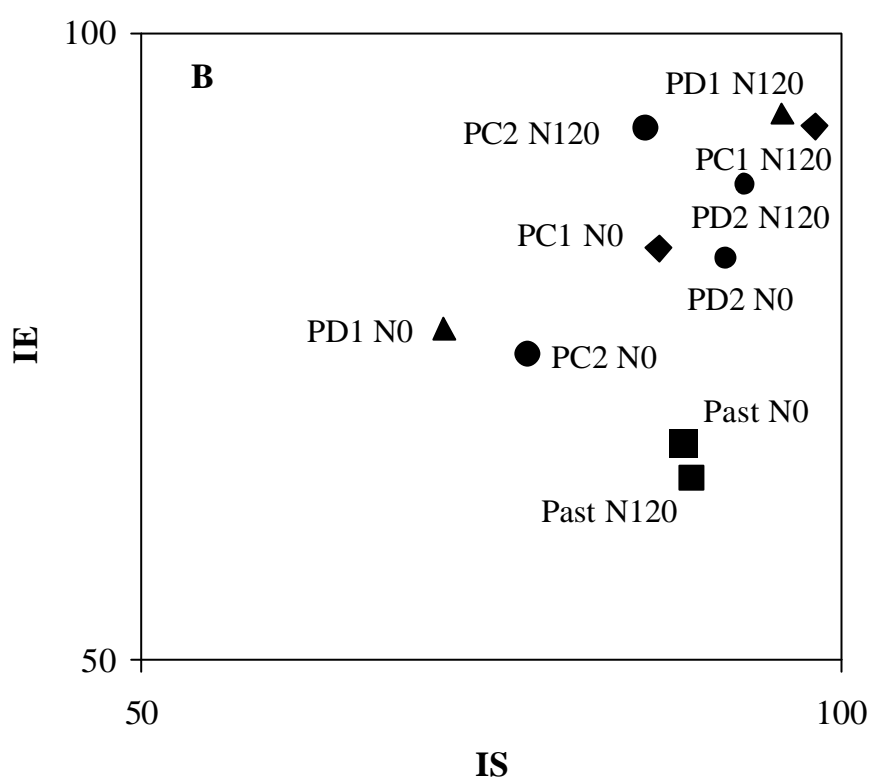
**Figura 37.** Índice de estrutura (IS), nos diferentes tratamentos, na primavera de 2007 para um solo do pampa austral, nas duas condições de fertilização. Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto – rotação cultivos; PC2= plantio convencional – rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização. A barra indica LSD ( $P < 0.05$ )

### 3.4.3. Perfil faunal

A representação gráfica do perfil faunal indica a condição da comunidade de nematóides, se ela está enriquecida mas não estruturada (quadrante A), enriquecida e estruturada (quadrante B), com recursos limitados e estruturada (quadrante C), o recursos empobrecidos com mínima estrutura (quadrante D) (FERRIS et al., 2001).

Para a primavera o perfil da rede trófica do solo mostra os valores médios dos índices IE e IS dos diferentes tratamentos em espaço bidimensional com os valores do IS sobre a coordenada X e dos IE sobre a coordenada Y (Figura 37).

No geral os valores de IE e IS foram elevados para todos os tratamentos representando redes tróficas enriquecidas e em maturação (FERRIS et al, 2001) e colocando os diferentes tratamentos no quadrante B. Dentre os tratamentos, os menos enriquecidos são os Past. (N0 e N120). Os elevados valores do IS correspondem à alta presença de nematóides onívoros e predadores registrados na primavera, enquanto as elevadas densidades, de nematóides bacteriófagos e micófagos, geram um valor alto do IE (FERRIS et al, 2001). Quanto ao IC, indicador da via de decomposição da matéria orgânica do solo (FERRIS et al, 2001), apresentou-se baixo em todos os tratamentos, mas os valores ainda menores foram nos tratamentos que tiveram fertilização. Esse resultado confirma o efeito da fertilização sobre o índice (Figura 35), pela associação do incremento dos nematóides oportunistas de enriquecimento (Ba1 e Mi2) com a maior disponibilidade de N (FERRIS et al, 2004).



**Figura 38.** Perfil faunal baseado na abundância de nematóides para os dez tratamentos (notar que a escala dos eixos foram ajustados para facilitar a comparação): Past= pastagem; PD1= plantio direto-rotação pastagens; PC1= plantio convencional-rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; N120= com fertilização; N0= sem fertilização.

#### 4. CONCLUSÕES

Do estudo desenvolvido onde foram comparados os índices de maturidade e os que avaliam a rede trófica do solo em diferentes sistemas de cultivos no Pampa austral Argentino conclui-se que: a) os nematóides fitófagos formaram o grupo funcional dominante juntamente com os bacteriófagos, sendo os onívoros-predadores o grupo funcional que aumentou no transcorrer das amostragens; b) os índices de maturidade (IM, IM2-5, mIM e o IPP) foram eficientes na indicação de distúrbios, resultando os tratamentos com sistemas conservacionistas (plântio direto e com rotações com pastagens) ambientes mais estáveis; c) os índices que avaliam a rede trófica do solo foram eficientes indicadores do estado da rede e complementaram-se com os de maturidade, sendo o IC eficaz na indicação da via de degradação da matéria orgânica, sendo prevalecte a degradação bacteriana.

## **CAPITULO III**

### **COMUNIDADE DE NEMATOIDES DO SOLO: PADRÕES DE DIVERSIDADE MOLECULAR**

## RESUMO

Neste capítulo, vamos tentar extrair o DNA da comunidade de nematóides do solo e avaliá-los com uma PCR-RFLP, como uma aproximação à diversidade das comunidades. Para isto determinou-se padrões moleculares da comunidade de nematóides no ecossistema do pampa austral argentino, sob dois sistemas de plantio (plantio direto e plantio convencional), com duas rotações (rotação agricultura-pastagem e rotação agricultura contínua) e uma condição de fertilização, com a dose de nitrogênio (N) de 120 kg N ha<sup>-1</sup> na forma de uréia. Foram conduzidas três amostragens: no inverno e no verão de 2006 e na primavera de 2007. Realizou-se a extração dos nematóides do solo pelo método de flutuação-centrifugação. Quatro métodos de extração do DNA de nematóides foram avaliados (maceração em tampão Tri-Edta, maceração e digestão em SDS, maceração e digestão em resina Chelex, e maceração e digestão em tampão com CTAB-brometo de cetyltrimethylammonium 2%). Foram medidas a concentração e qualidade do ADN e amplificação mediante termociclador utilizando-se dois pares de *primers* (NemF1/S3 e NS1/NS4). Finalmente utilizou-se a técnica de RFLP (Polimorfismo de comprimento de Fragmento de restrição) com duas enzimas de restrição (*Hae* III, *Hinf* I). O método (CTAB) foi eficaz na extração de DNA dos nematóides permitindo obter boa quantidade e qualidade de ADN, os *primers* NEMF1/S3 e NS1/NS4 amplificaram segmentos do ADNr de 700 pb e 1000 pb respectivamente, enquanto as enzimas de restrição *Hae*III, *Hinf* I e uma combinação de ambas tornaram possível a obtenção de diferentes perfis moleculares, em geis de agarose, para cada tratamento avaliado. Os geis foram observados em transiluminador UV e uma imagem foi capturada e digitalizada para ser analisada com o software TotalLab®, que permitiu calcular os índices de diversidade. Foram obtidos 53 diferentes padrões RFLP e o índice de diversidade de Shannon ( $H'$ ) foi para todas as combinações de primer/enzima, dentro do intervalo de 1,01- 2,29. Para cada estação e combinação de primer/enzima, todos os parâmetros apresentaram diferenças entre os tratamentos, que foram em alguns casos, estatisticamente significativas. A combinação de primers e enzima (NEMF1/S3 *Hae*III) mostraram diferenças entre os tratamentos, para alguns índices de diversidade, nas diferentes estações de amostragem.

**Palavras – chave:** Nematóides. Sistemas de plantio. Extração DNA. RFLP.



## ABSTRACT

In this chapter we will try to complement the morphological studies with molecular diversity aiming to confirm the observations already indicated in previous chapters. For this we determined the molecular patterns of the nematodes community in the southern pampas ecosystem of Argentina, under two tillage systems (no tillage and conventional tillage), with two rotations (rotation crop-rotation grazing and agriculture remains) and one condition of fertilization with the dose of nitrogen (N) 120 kg N ha<sup>-1</sup> as urea. Were are three sampling time: in winter and summer of 2006 and spring 2007. Nematodes were extracted from of soil by flotation-centrifugation method. Four DNA extraction methods from nematodes were assessed (maceration in Tri-EDTA buffer, maceration and digestion in SDS, maceration and digestion in Chelex resin, and maceration and digestion in buffer containing CTAB (cetyltrimethylammonium bromide, 2%). We measured the concentration and quality of DNA and PCR amplification by using two pairs of primers (NemF1/S3 and NS1/NS4) and finally applied the RFLP technique (length polymorphism restriction fragment) with two restriction enzymes (*HaeIII*, *HinfI* ) and a combination of both That allowed to obtain different molecular profiles, in agarose gels, for each treatment. The gels were observed with UV transillumination and the image was captured and digitized to be analyzed with the software TotalLab ®, which allowed us to calculate the diversity index. We obtained 53 different RFLP patterns and the Shannon index (*H*) was for all combinations of primer/enzyme at all sampling, within an range from 1.01 to 2.29. For each season and primer/enzyme combination, all parameters showed differences among treatments, which were in some cases statistically significant. The combination NEMF1/S3 primer pair and *HaeIII* enzyme showed differences in some diversity index among treatments at all seasons.

**Keywords:** Nematodes. Tillage systems. DNA extraction. RFLP.

## 1. INTRODUÇÃO

A biodiversidade pode ser expressa como riqueza de espécies, diversidade de espécies, diversidade genética e diversidade funcional (HEYWOOD & IRIONDO, 2003). Os estudos da diversidade dos nematóides estão baseados, principalmente, na determinação taxonômica pela observação dos caracteres morfológicos chaves para o reconhecimento dos diferentes grupos. Contudo, para este tipo de estudo é necessária a participação de especialistas treinados na taxonomia de nematóides. Além disso, para determinar a morfologia taxonômica leva um longo tempo de observação, o que por vezes limita estudos, particularmente quando se trabalha com amostras de ambientes com alta diversidade biológica.

Nas últimas décadas os avanços no estudo de ácidos nucléicos (DNA) do genoma de organismos, que teve suas origens na pesquisa de medicina legal e de doença, abriram as portas para novas áreas de estudo da taxonomia de organismos (DARLING & BLUM, 2007). Utilizando as bases dos estudos moleculares, os taxônomos e sistemáticos desenvolveram outras aplicações com o DNA dos organismos. Nos últimos anos, técnicas de biologia molecular estão sendo empregadas para a determinação de ambas as diversidades, genética e funcional da maioria dos organismos, inclusive nematóides.

O genoma mitocondrial é a molécula de maior interesse e mais utilizado para estudar evolução ao nível molecular. A importância desta molécula é pela presença de regiões altamente conservadas, bem como regiões altamente variáveis que permitem separar organismos no nível de espécies. As primeiras investigações revelaram que taxa de nematóides muito próximos, têm fortes diferenças no nível genético (SIDOW & THOMAS, 1994; BLAXTER, 1998).

Diferentes protocolos para a extração do DNA genômico isolado do nematóide da própria cultura ou de amostras ambientais (solo, raízes, etc.) estão disponíveis na literatura (GRIFFITHS et al., 2006; JONES et al., 2006; COURA et al., 2008; DONN et al., 2008; TOYOTA et al., 2008). Embora, é necessária uma standardização de protocolo de extração que permita extrair DNA de nematodes de amostras ambientais de boa integridade e qualidade. A reação em cadeia da polimerase (PCR), permitiu a amplificação de diferentes regiões do gene ribossomal 18S rDNA dos nematóides. Para fazer isso, diferentes *primers* (seqüências de oligonucleotídeos, que limitam a região para amplificar nas reações de PCR) foram concebidos para estudos filogenéticos de nematóides (FLOYD et al., 2002; WAITE et al., 2003; BLAXTER, 2004; TOYOTA et al., 2008).

Dois estratégias são as mais utilizadas para estudos taxonômicos e de diversidade: de um lado o “Barcoding” DNA (que, embora não seja a sua tradução textual, o seu significado é o código de barras) está baseado no estudo de curtas seqüências de DNA extraído do genoma do organismo em estudo (CBOL, 2006) e que são próprias da mesma (o seu “código de barras”) e a outra é a de *fingerprinting*. As duas se baseiam nas pequenas regiões (<1000 pares de bases) do genoma dos organismos que são selecionadas por apresentarem, em geral, pouca ou nenhuma variação entre indivíduos da mesma espécie, embora variação interespecífica. Isso permitirá seguir o seqüenciamento destas regiões, reconhecendo as duas espécies em uma amostra desconhecida, bem como identificar espécies conhecidas em uma amostra ambiental (DARLING & BLUM, 2007). O seqüenciamento das regiões de DNA amplificadas, irá comparar as seqüências obtidas a partir de outras bases disponíveis para acesso público (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) e, assim, gerar árvores filogenéticas.

Além da clonagem e seqüenciamento, cinco técnicas são as mais usadas para o *fingerprinting* molecular de comunidades microbianas e que podem ser utilizadas com os nematóides: eletroforese em gel com gradiente desnaturante (*Denaturing Gradient Gel*

*Electrophoresis*: DGGE), Conformação de polimorfismos de cadeia simples (*Single Strand Conformation Polymorphism*: SSCP), polimorfismos de fragmentos de restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphism*: RFLP), e polimorfismos de fragmentos de restrição terminais (*Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism*: T-RFLP) e análise de espaços intergênicos ribossomal (*Ribosomal Intergenic Spacer Analysis*: RISAs).

Destes, o DGGE está sendo utilizado a partir dos trabalhos pioneiros de FOUCHER & WILSON (2002) e WAITE et al., (2003). Este último adaptou a metodologia estabelecida com outros organismos, para estudar comunidades de nematóides em diferentes áreas de pastagens na Europa. Nesta técnica a diversidade pode ser avaliada mediante os diferentes padrões gerados pelos diferentes amplificadores obtidos por PCR em géis de DGGE. A eletroforese em DGGE é uma poderosa técnica de análise genética que pode ser usada para detectar diretamente modificações de uma única base e polimorfismos em DNA genômico, DNA clonal e DNA amplificado por PCR, trata-se de um método de separação eletroforética baseado em diferenças no comportamento de desnaturação de fragmentos de DNA de cadeia dupla.

A fim de se aumentar o polimorfismo de bandas e melhorar a resolução, podem ser empregadas enzimas de restrição nas amostras de DNA antes da eletroforese, que seria a utilização da técnica de Polimorfismo de comprimento de Fragmento de restrição (RFLP). A vantagem da utilização dessa técnica que também proporciona um *fingerprinting* da amostra em estudo, é que ela permite a análise de regiões codificadoras conhecidas como os espaçadores internamente transcritos (ITs) do rDNA. Essas regiões ocorrem entre a subunidade menor (18S) e maior (28S) dos genes ribossomais, os quais têm seqüência de bases menos conservadas que podem ser usadas na diferenciação entre espécies relacionadas ou para avaliação de divergência genéticas inter-específicas (HIDEAKI et al., 2001; ALPER SUSURLUK & TOPRAK, 2006).

LIU et al., (1997), na busca por um método molecular que permitisse obter informações sobre a posição filogenética a respeito dos grupos microbianos dominantes em amostras ambientais e que ainda servisse como método quantitativo, desenvolveu então, uma versão estendida do RFLP de fragmento amplificado por PCR chamado de Polimorfismo de Fragmento de restrição Terminais (T-RFLP). A técnica de T-RFLP é derivada da combinação de três outras técnicas: a reação de PCR, RFLP e a eletroforese de ácidos nucleicos (LIU et al., 1997; MARSH, 1999). Os produtos de digestão são então analisados em um gel, gerando um padrão de fragmentos de DNA que pode ser utilizado para a comparação de comunidades. A diferença na análise de T-RFLP é que os iniciadores utilizados para a PCR são marcados com fluorescência de modo que somente os fragmentos de restrição terminais são detectados, o que reduz a complexidade da análise. A T-RFLP também demonstrou ser uma valiosa ferramenta que permite discriminar entre as comunidades de nematóides extraídos de amostras de diversos ambientes (DONN et al., 2008).

Desta forma o objetivo no presente capítulo foi, extrair o DNA de nematóides de solo coletados em seu ambiente natural, e avaliar as comunidades do solo com um método rápido, como a PCR-RFLP, que poderia ser usado como uma aproximação da diversidade dos nematóides.

## 2. MATERIAL E METODOS

Os estudos foram conduzidos no Pampa Austral (Região Mar e Serras) em parcelas de um experimento de rotações mistas e seqüência de cultivos de longa duração (30 anos), na Unidade Integrada Balcarce (Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Mar del Plata - Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária) (UIB) Balcarce, Buenos Aires, Argentina (37° 45' S, 58° 18' O, 130 m acima do nível do mar). Os solos do experimento são classificados segundo SOIL TAXONOMY (1990) como Argiudol típico fino, ilítico, térmico e Paleudol petrocálcico, franco, ilítico, térmico, com teores de matéria orgânica maiores que 6,2 % ( $\pm 0,3$ ) e pH 5,7 ( $\pm 0,4$ ).

### 2.1. Amostragem e Extração dos Nematóides do Solo.

Nas unidades experimentales (subparcelas) foram coletadas 6 subamostras de solo em zige-zage. Utilizou-se um trado cilíndrico de 2,5 cm de diâmetro para coletar o solo a 0 - 20 cm de profundidade. Essas seis subamostras foram misturadas para formar uma amostra composta de aproximadamente um litro de solo. Os tratamentos escolhidos foram amostrados em três oportunidades, no inverno (w) de 2006 e no verão (u) e a primavera (s) de 2007.

P: Pastagem contínua de 12 anos.

A1: Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional.

B1: Rotação pastagem-cultivo sob plantio direto.

Y2: Cultivo contínuo sob plantio convencional.

Z2: Cultivo contínuo sob plantio direto.

Todos os tratamentos receberam dose de 120 kg N ha<sup>-1</sup>, na forma de uréia (46-0-0).

Para extração dos nematóides do solo, foi implementado o método de flutuação-centrifugação como descrito por CAVENESS & JENSEN, 1955. Basicamente, 100g de solo são passados em duas peneiras sobrepostas, uma com malha de 60 Mesh (250  $\mu$ m) e outra de 500 Mesh (25  $\mu$ m). O material retido em cada peneira foi suspenso em água, e centrifugados por 7 min a 3000 rpm (1800 g). O material precipitado na centrifugação foi ressuspenso em solução de sacarose de densidade 1,18 e centrifugado novamente por 5 min a 3000 rpm (1800 g). Finalmente, o sobrenadante foi passado em peneira (500 Mesh) e o que for retido foi armazenado em água (recipientes de 25 mL). Dos recipientes contendo nematóides foi tomada uma alíquota e colocada em microtubos de 1,5  $\mu$ L contendo álcool 70% e foram depositados em freezer a -20 °C.

### 2.2. Extração de ADN

Para a extração do ADN da comunidade de nematóides foram implementadas diferentes metodologias a seguir: Macerado direto de nematóides em tampão TE, SDS/ Fenol: Clorofórmio, Resina chelex/tampão TE e CTAB/ Fenol: Clorofórmio. Para cada método de extração de DNA, as amostras foram lavadas com tampão TE (10 mM Tris-HCl [pH 7,5]). Para cada método a maceração física foi a mesma: nematóides foram colocados em tubos de 1,5 ml Eppendorf, centrifugado para a base e esmagado com um micropistilo estéril sobre gelo. Cada método variou no buffer de solução de lisis ou ruptura de nematóides:

**a) Macerado direto em tampão TE:**

O rompimento foi feito em 500  $\mu$ L de tampão TE, (10 mM Tris-HCl, EDTA 1 mM [pH 8,0]) buffer e  $\beta$ -mercaptoetanol Sigma solução a 1%. O pellet foi secado e ressuspensão em 50  $\mu$ L de água após a centrifugação (13000 rpm, 4 min, 4 ° C) e armazenado a -20 ° C até o uso.

**b) Macerado em SDS/ Fenol: Clorofórmio:**

O rompimento de nematóides foi realizada em 500  $\mu$ L de SDS (1% de dodecil sulfato de sódio), EDTA 50 mM, NaCl 100 mM, 100 $\mu$ g mL proteinase K-1,  $\beta$ -mercaptoetanol Sigma 1% e 100 mM Tris-HCl pH 8,5 de acordo com a método descrito por DONN et al. (2008). O material foi congelado em nitrogênio líquido seguido de descongelamento e aquecimento a 60 ° C por 30 min. O sobrenadante foi removido para um novo tubo, deixando para trás o material cuticular dos nematóides. O sobrenadante foi submetido a extração com fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1, pH = 8) com uma posterior extração de clorofórmio. O DNA foi então precipitado (etanol frio e 1/10 vol acetato de sódio). O pellets resultante foi lavado duas vezes com etanol 70% frio, e secado ao ar. Posteriormente foi ressuspensão em 50 $\mu$ L água e armazenado a -20 ° C até o uso.

**c) Macerado em resina chelex/tampão TE:**

O rompimento de nematóides foi feita em 240  $\mu$ L de tampão TE com 160  $\mu$ L de Chelex 100 20% (Bio-Rad Laboratories, Hercules, Califórnia) como uma modificação do método descrito por SOUSA et al. (2004) para esporos. As amostras foram então submetidas a dois ciclos de aquecimento (95 ° C, 10 min) / congelamento em nitrogênio líquido e, em seguida, centrifugado a 13.000 rpm por 2 min. O sobrenadante foi cuidadosamente transferido para um novo tubo e armazenado a -20 ° C até o uso.

**d) Macerado CTAB/ Fenol: Clorofórmio:**

A extração de ácidos nucléicos foi feita na sequência de um método modificado descrito por VIERSTRAETE (2009) e SAMBROOK et al. (1989): O rompimento dos nematóides foi realizado em 500  $\mu$ L de tampão TE (10 mM Tris-HCl [pH 8,0], 1 mM EDTA [pH 8,0] buffer) com CTAB (brometo de cetyltrimethylammonium) 2%, proteinase K 100 mcg / mL,  $\beta$ -mercaptoetanol 1%. Posteriormente os tubos foram colocados em nitrogênio líquido e levados logo para banho Maria de 60 ° C por 60 minutos, com períodos curtos de vortex. Os tubos foram centrifugados por 10 min a 4 ° C a 13000 rpm, 400  $\mu$ L do sobrenadante foi transferido para um novo tubo. 400  $\mu$ L de fenol/clorofórmio/isoamil álcool (25:24:1 v/v), foram acrescentados aos tubos, foram passados por vortex e centrifugados por 10 min a 13000 rpm e a fase aquosa superior foi transferida para o novo tubo. Posteriormente foi acrescentado o mesmo volume de clorofórmio/isoamil álcool (24:1 v/v) e a amostra foi passada por vortex e centrifugada para remover o fenol residual. O sobrenadante foi transferido para o novo tubo e foram acrescentados 0,1 volumes de acetato de sódio 3M [pH 5,2] e 2 volumes de etanol (-20 ° C). Esta mistura foi mantida a -20 ° C durante a noite toda. Posteriormente a mistura foi centrifugada por 30 min a 4 ° C a 13000 rpm, o sobrenadante foi descartado e o pellet de DNA foi lavado in 500  $\mu$ L de etanol 70 % (v/v) e foi deixada ao ar para secar por aproximadamente 10 min. Uma vez seco o DNA foi ressuspensão em 30  $\mu$ L de água destilada estéril e armazenado a -20 ° C.

### 2.3. Avaliação da Qualidade dos Extratos de ADN

A concentração de ADN foi medida em todos os extratos, medindo a absorvância a 260 nm, com a utilização de um espectro (Biorad Smart Spec 3000). A qualidade dos extratos foi testada pela razão 260/280 nm (SAMBROOK et al., 1989).

### 2.4. Amplificação do ADN (18S ADN ribosomal)

A amplificação por PCR (*Polymerase chain reactions*) foi realizada para testar a adequação dos extratos de ADN para próximas aplicações moleculares, e também utilizada para aumentar rendimentos do ADN ribosomal. Realizaram-se duas PCR, que foram consideradas repetições. Utilizaram-se os pares de *primers* NEMF1/S3 (WAITE et al. 2003) e NS1/NS4, os quais amplificam, do 18S, aproximadamente 700 pb e 1000 pb respectivamente.

O NEMF1 amplifica as regiões variável V3 e V5 do rDNA 18S, e o S3 é um *primers* "universal 18S rDNA que hibridiza com as regiões altamente conservadas da molécula do 18S rDNA dos eucariota (Waite et al., 2003). O *primers* NS1 e NS4 hibridiza com as regiões altamente conservadas da molécula do 18S rDNA dos eucariotas (White et al., 1990). Quando a PCR não amplificou, os extratos foram purificados com o Wizard® SV Gel e sistema de limpeza de PCR e foi repetida a amplificação por PCR. As PCRs foram executadas num volume de 25 µL contendo 1 X PCR tampão (Invitrogen), 0,2 mM de cada dNTPs, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 µM de forward e reverse *primers*, 1 unidade de *Taq* DNA polimerasa (Invitrogen) e 2 µL de ADN usando o termociclador eppendorf Mastercycler com o seguinte perfil: temperatura inicial de desnaturado de 94 °C por 2 min seguido de 35 ciclos de 94 °C por 1 min, 55 °C por 1,5 min e 72 °C por 1 min e 72 °C de extensão final por 10 min. Todas as PCR tiveram uma testemunha negativa. O produto de PCR (3 µL) foi carregado sobre um gel de agarose a uma concentração de 1,5% TAE e colocado em eletroforeses por 40 min a 100 V. O Produto foi colorido com brometo de etídio e visualizou-se com um trans-iluminador de UV. O tamanho dos fragmentos foi estimado com o marcador 1Kb Plus DNA ladder (Invitrogen).

### 2.5. RFLP (Polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição)

As análises de restrição foram feitas para todos os produtos de PCR, utilizando endonuclease de restrição que foram selecionadas para clivar os amplificados do 18S e revelar perfis que puderam ser visualizados por eletroforeses de gel de agarose. As duas enzimas de restrição utilizadas foram *Hae*III e *Hinf*I como também uma mistura de ambas enzimas (50:50). Todas as digestões foram completadas independentemente e realizadas em 15 µL de volume com 3 µL de produto de PCR, 10 X de tampão, e 3 unidades de endonuclease de restrição. A reação foi incubada a 37 °C por uma hora. A digestão foi levada para eletroforese por 1 h a 65 V sobre um gel de agarose 2,5 % (Meta Phor. Cambrex Bio Science Rockland Inc. Me USA). O tamanho dos fragmentos foi estimado com o marcador ? X 174 DNA *Hae* III Digest (1.353 pb) (Sigma).

### 2.6. Caracterização Molecular (PCR-RFLP)

Imagens de padrões de RFLP foram capturadas, digitalizadas e analisadas com o software TotalLab®. O software registrou um perfil de intensidade em cada pista. Posteriormente, as bandas que ocupam a mesma posição nas diferentes pistas foram identificadas. A matriz foi construída, tendo em conta a contribuição relativa da banda com a intensidade total da pista. O número de bandas e suas intensidades relativas foram utilizados

para calcular o índice de diversidade de Shannon ( $H'$ ), índice de Simpson ( $D_s$ ) e a equitabilidade ( $J$ ) para cada comunidade de nematóides, de acordo com a seguinte fórmula:

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

Onde  $n$  é o número de bandas na amostra e  $p_i$  a intensidade relativa da banda  $i$ .

$$D_s = \frac{1}{\sum_{i=1}^n p_i^2}$$

$$J = H' / \ln S$$

Onde  $H'$  é índice de diversidade e  $S$  é o número total de bandas presentes.

## 2.7. Análises dos Dados

Os dados foram submetidos à análise de variância do pacote estatístico *Statistical Analysis Systems* (SAS). Para determinar a eficiência de recuperação do DNA, após purificação, foram utilizadas quatro repetições para cada método de purificação para cada tipo de amostra de solo.

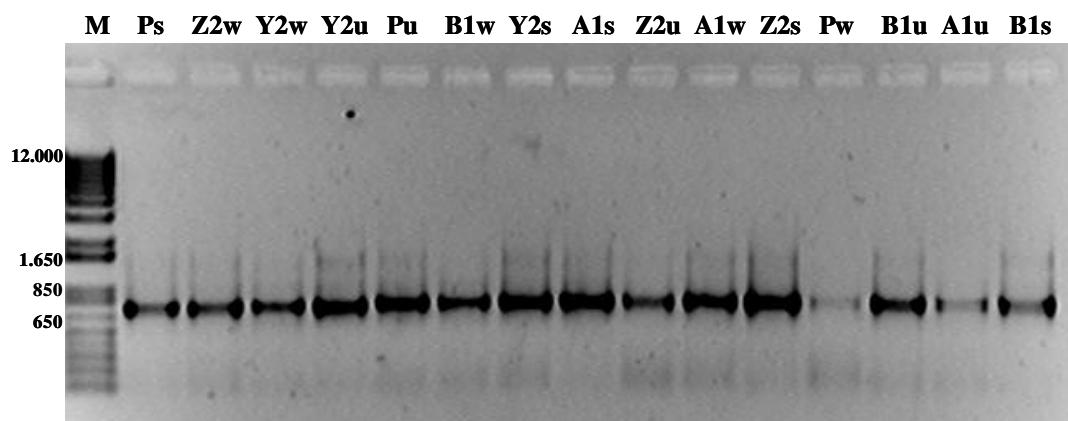
### 3. RESULTADOS E DISCUSÃO

#### 3.1. Extração e Avaliação da Qualidade dos Extratos de ADN

A concentração de DNA obtido do método CTAB / fenol clorofórmio, variou de 20 ng  $\mu\text{L}^{-1}$  a 90 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ . O método da resina Chelex falhou completamente, sem nenhuma extração de DNA detectável. Medidas de densidade óptica do ADN foram maiores para a ruptura física no buffer TE e de SDS (up to 120 ng  $\mu\text{L}^{-1}$  dados não mostrados). No entanto, o rompimento, em tampão TE, SDS, e no método de resina Chelex, falharam na PCR, ainda depois da purificação das amostras de DNA com o kit Wizard®. O método de extração de DNA, CTAB / clorofórmio fenol, foi o único que deu positivo no amplicons da PCR do rDNA 18S. A amplificação por PCR, utilizando os pares de primers NEMF1/S3 e NS1/NS4 permite a obtenção de fragmentos de aproximadamente 700 pb e 1000 pb, respectivamente (Figuras 36 e 37). As diferentes intensidades nas bandas para os distintos tratamentos, poderiam ser explicadas pelas diferentes densidades e composições das comunidades de nematóides em cada ambiente.

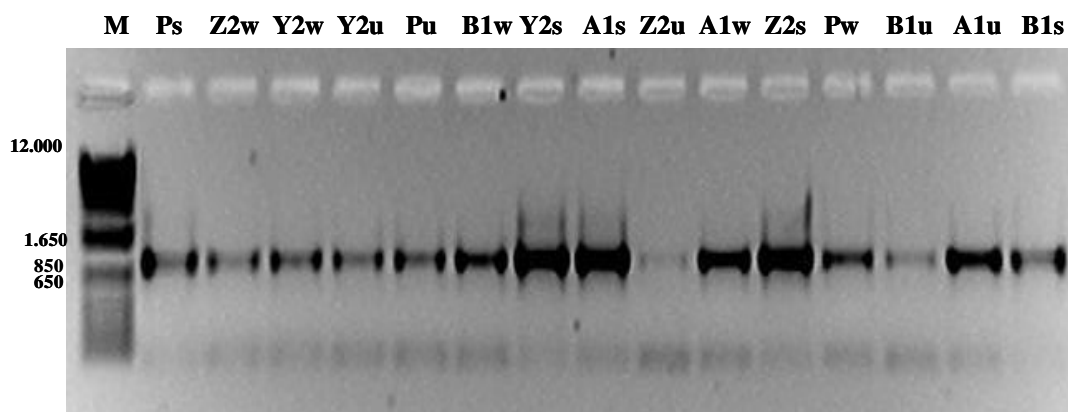
#### 3.2. RFLP

Os produtos de amplificação foram submetidos à ação de duas enzimas de restrição (*Hae* III, *Hinf* I) dentro da técnica de RFLP (Polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição). No total, obtiveram-se 53 padrões moleculares diferentes. Para o produto do primers NS1/NS4 que foram clivados com as enzimas *Hae*III e *Hinf*I obtiveram-se 10 e 4 padrões diferentes respectivamente (Figuras 37 e 38) e para os primers NEMF1/S3 tratados com *Hae*III, e *Hinf*I obtiveram-se 7 e 12 padrões diferentes respectivamente (Figuras 39 e 40). Enquanto, para a mistura de enzimas (*Hae*III e *Hinf*I), o primers NS1/NS4 gerou 6 padrões e o primers NEMF1/S3 14 padrões (Figuras 41 e 42).

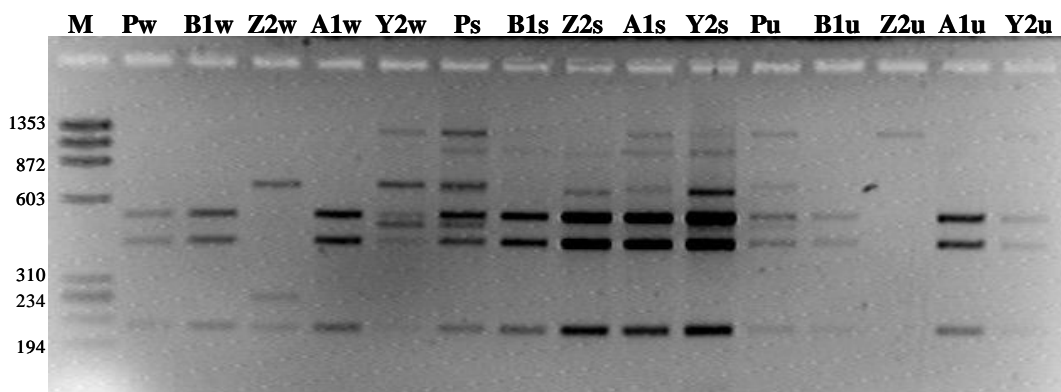


**Figura 39** Gel de agarose (1 % w/v) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóides. O DNA foi amplificado usando primers NEMF1/S3. P= Pastagem continua de 12 anos; B1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio direto; A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão. M= 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen).

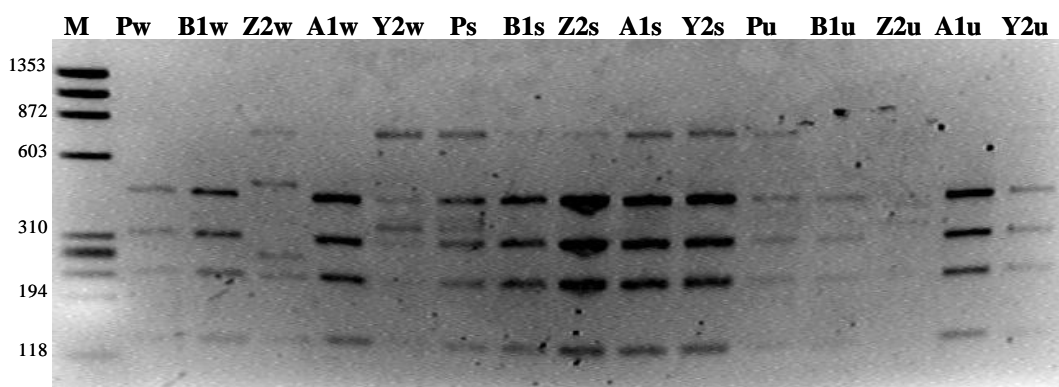




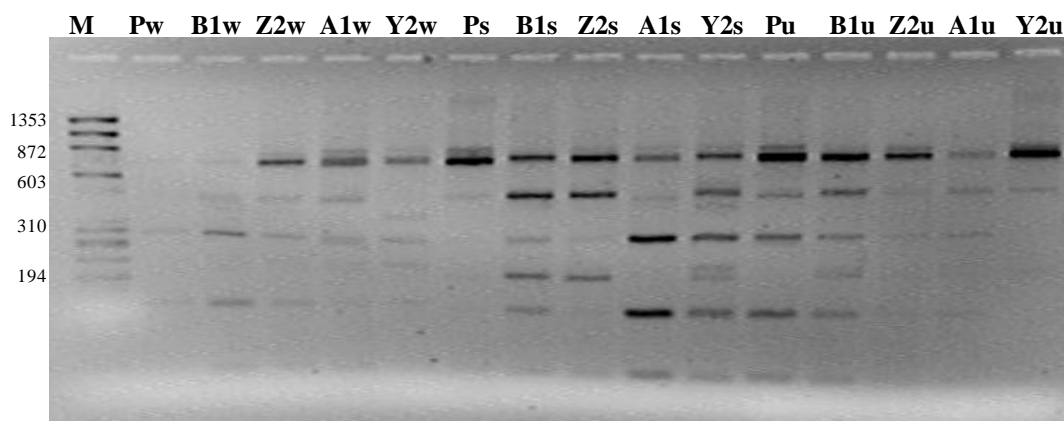
**Figura 40** Gel de agarose (1 % w/v) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóides. O DNA foi amplificado usando *primers* NS1/NS4. P= Pastagem contínua de 12 anos; B1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio direto; A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão. M= 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen).



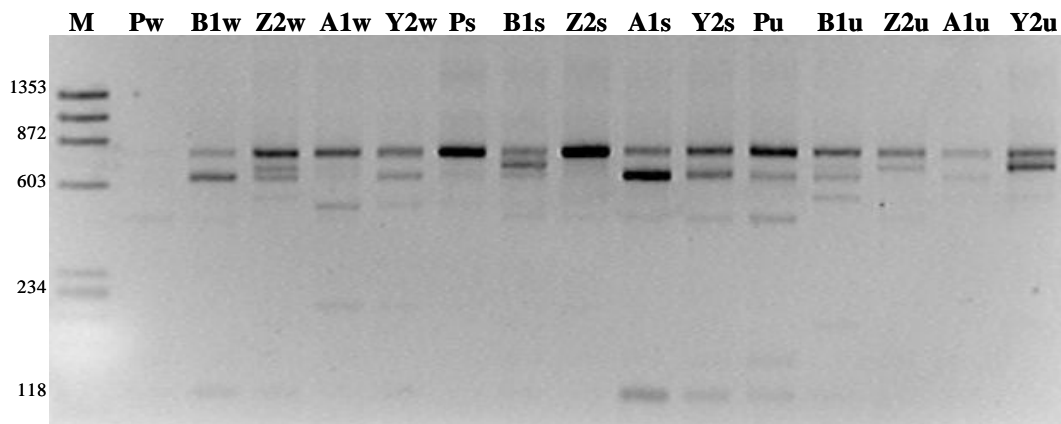
**Figura 41.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os primers NS1/NS4. Amplicons foram digeridos com *HaeIII* e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão. MQ? = ? X 174 DNA *Hae III* Digest (1.353 pb) (Sigma).



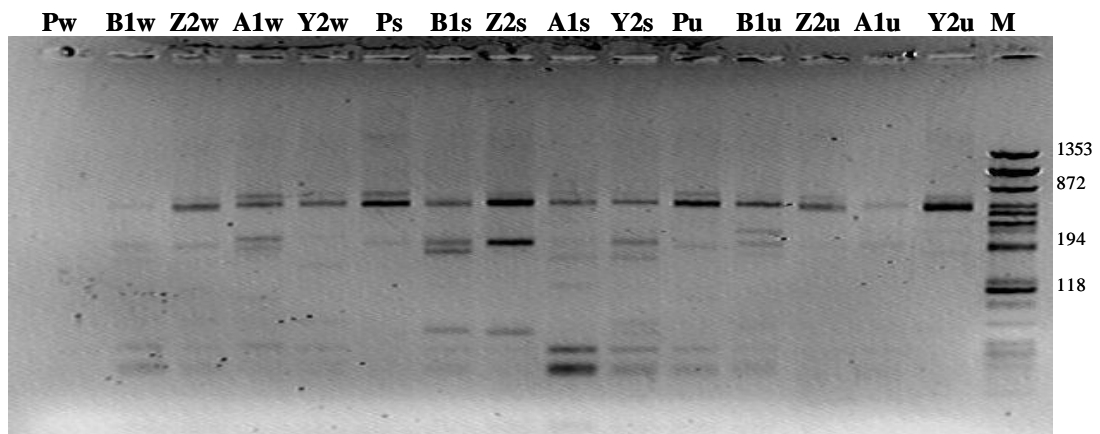
**Figura 42.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os primers NS1/NS4. Amplicons foram digeridos com *Hinf*I e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão.. MQ? = ? X 174 DNA *Hae* III Digest (1.353 pb) (Sigma).



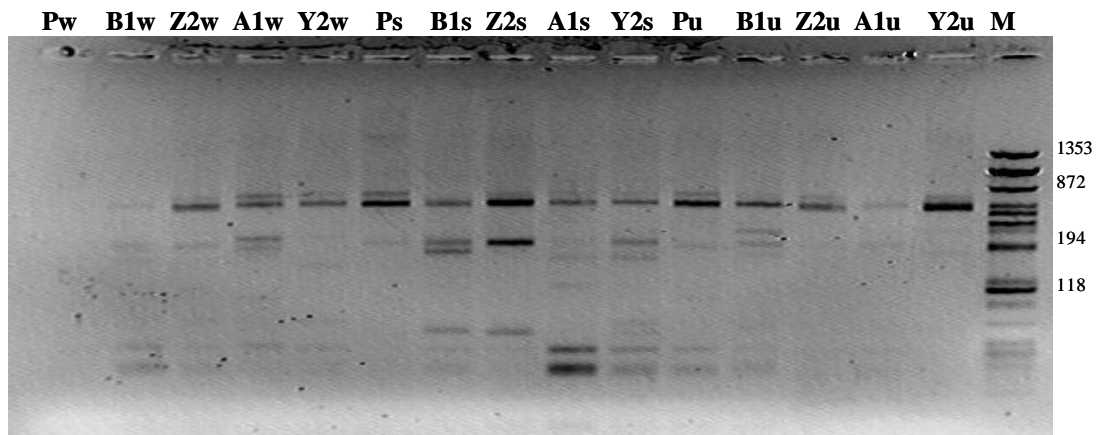
**Figura 43.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os primers NEMF1/S3. Amplicons foram digeridos com *Hea*III e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1= Rotação pastagem-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão.. MQ? = ? X 174 DNA *Hae* III Digest (1.353 pb) (Sigma).



**Figura 44.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os *primers* NEMF1/S3. Amplicons foram digeridos com *Hinf*1 e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1= Rotação pastagen-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão.. MQ? = ? X 174 DNA *Hae* III Digest (1.353 pb) (Sigma).

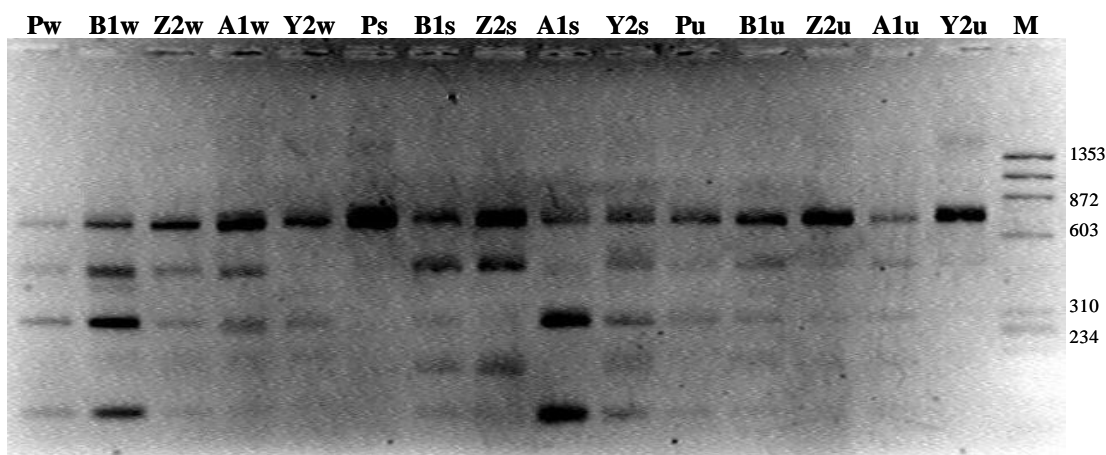


**Figura 45.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os *primers* NEMF1/S3. Amplicons foram digeridos com a mistura (*Hae*III/*Hinf*1 50%/50%) e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1= Rotação pastagen-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão. MQ? = ? X 174 DNA *Hae* III Digest (1.353 pb) (Sigma).



**Figura 46.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR do rDNA do 18S de nematóide. DNA da comunidade foi amplificado usando os *primers* NS1/NS4. Amplicons foram digeridos com com a mistura (*Hae*III/*Hinf*I 50%/50%) e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1=Rotação pastagen-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão.  
 MQ? = ? X 174 DNA *Hae* III Digest (1.353 pb) (Sigma).

Para verificar a reprodutibilidade PCR-RFLP, todos os padrões foram desenvolvidos a partir de análises repetidas de PCR e digestão enzimática do mesmo extrato de DNA. Todas as análises repetidas produziram padrões RFLP que eram indistinguíveis para a mesma combinação de primers e enzimas de digestão. Como exemplo se apresenta a combinação NemF1/S3-*Hae*III (Figura 40) que mostram o padrão de RFLP repetida na Figura 44. Assim, foram calculados os índices de biodiversidade como média entre os dois conjuntos de dados gerados pelos padrões repetidos de RFLP.



**Figure 47.** Fragmentos de restrição (RFLP) da amplificação por PCR (2da) do rDNA do 18S de nematóide DNA da comunidade foi amplificado usando os *primers* NEMF1/S3. Amplicons foram digeridos com com a enzima *HaeIII* e corridos em gel de agarose 2 % (w/v). A1=Rotação pastagen-cultivo sob plantio convencional; Y2= Cultivo contínuo sob plantio convencional; Z2= Cultivo contínuo sob plantio direto; w= inverno; s= primavera; u= verão.M= ? X 174 DNA *HaeIII* Digest (1353 bp) (Sigma).

### 3.3. Índice de Diversidade

Os índices de diversidade calculados, a partir do tratamento das imagens dos géis, pelo programa TotalLab®, para os diferentes tratamentos estudados e épocas amostradas são apresentados na Tabela 29. O índice de Shannon ( $H'$ ) apresentou-se para todas as combinações de primer/enzima em todos os tratamentos, dentro de um intervalo de 1,01 - 2,29. Em geral, os índices  $H'$  obtidos, foram ligeiramente superiores aos relatados por MONDINO et al. (2002) que calculou os índices de diversidade de tratamento na mesma área, mas utilizando medições da biodiversidade através da taxonomia clássica. Além disso, no tratamento de Pastagens (controle), na Primavera e para todas as combinações de pares de primers/enzima os valores medios do  $H'$  foram maiores em relação ao relatado por MONDINO et al. (2002).

**Tabela 29.** Valores médios dos índices de diversidade em todas as épocas de amostragens e para todas as combinações de enzimas de restrição e primers utilizados em um solo do Pampa austral da Argentina.

<i>Hae</i> III NemF1/S3									
Trat	Invierno 2006			Verano 2007			Primavera 2007		
	<i>H</i>	Ds	J	<i>H</i>	Ds	J	<i>H</i>	Ds	J
Past	1,58a	0,21a	0,99a	1,86a	0,17b	0,96a	1,88ba	0,18a	0,94a
PD1	1,83a	0,17ba	0,95b	1,92a	0,16b	0,95a	1,73b	0,19a	0,98a
PD2	1,72a	0,19ba	0,97ba	1,77a	0,18ba	0,94a	1,69b	0,20a	0,95a
PC1	1,92a	0,16ba	0,95b	1,81a	0,17b	0,97a	1,99ba	0,15a	0,93a
PC2	1,97a	0,14b	0,98ba	1,67a	0,23a	0,89b	2,20a	0,12a	0,96a
<i>Hae</i> III NS1/NS4									
Past	1,31ba	0,29ba	0,97a	1,75a	0,18a	0,98a	2,00a	0,14a	0,97a
PD1	1,02b	0,38a	0,98a	1,31a	0,29a	0,96a	1,53b	0,22a	0,96a
PD2	1,67ba	0,19ba	0,98a	1,74a	0,18a	0,97a	1,79ba	0,18a	0,93a
PC1	1,34ba	0,28ba	0,94a	1,01a	0,67a	0,74a	1,63ba	0,21a	0,95a
PC2	1,86a	0,17b	0,98a	1,60a	0,22a	0,96a	1,93ba	0,15a	0,96a
<i>Hinf</i> I NemF1/S3									
Past	1,71a	0,19a	0,97a	1,43a	0,28a	0,90a	1,64a	0,25a	0,88a
PD1	1,58a	0,22a	0,93b	1,37a	0,29a	0,94a	1,75a	0,24a	0,84a
PD2	1,78a	0,20a	0,92b	1,74a	0,19a	0,93a	1,78a	0,27a	0,91a
PC1	1,64a	0,23a	0,92b	1,45a	0,26a	0,91a	1,87a	0,21a	0,96a
PC2	1,91a	0,17a	0,94b	1,73a	0,20a	0,94a	1,92a	0,16a	1,16a
<i>Hinf</i> I NS1/NS4									
Past	1,98a	0,15a	0,96a	2,23a	0,12a	0,93a	2,05a	0,15a	0,90a
PD1	2,00a	0,15a	0,91a	2,16a	0,13a	0,92a	1,84a	0,18a	0,94a
PD2	1,93a	0,16a	0,93a	1,88a	0,18a	0,90a	1,91a	0,16a	0,92a
PC1	1,76a	0,19a	0,90a	1,95a	0,16a	0,91a	2,03a	0,15a	0,88a
PC2	2,20a	0,13a	0,94a	1,77a	0,19a	0,89a	1,84a	0,17a	0,89a
Mix NemF1/S3									
Past	1,48b	0,23a	0,99a	1,75b	0,18a	0,98a	2,03a	0,15a	0,94a
PD1	2,29a	0,11a	0,97a	2,06a	0,13b	0,96ba	1,92a	0,15a	0,98a
PD2	2,02a	0,14a	0,98a	1,75b	0,19a	0,94ba	1,72a	0,20a	0,96a
PC1	2,23a	0,11a	0,98a	1,88ba	0,16ba	0,96ba	2,18a	0,12a	0,94a
PC2	1,97ba	0,66a	0,91a	1,91ba	0,17ba	0,92b	1,71a	0,19a	0,98a
Mix NS1/NS4									
Past	1,64a	0,20a	0,97a	1,99a	0,15a	0,97a	1,79b	0,18a	0,96a
PD1	1,73a	0,18a	0,98a	1,65a	0,22a	0,96a	1,85ba	0,17ba	0,95a
PD2	1,63a	0,20a	0,96a	1,68a	0,21a	0,95a	2,00ba	0,13b	0,96a
PC1	1,80a	0,19a	0,97a	1,64a	0,23a	0,94a	2,00ba	0,14ba	0,97a
PC2	1,93a	0,17a	0,96a	1,68a	0,20a	0,95a	2,10a	0,13b	0,97a

*H'*= índice de diversidade de Shannon, Ds= índice de diversidade de Simpson, J= índice de equitatividade. Past pastagem; PD1= plantio direto- rotação pastagens; PC1= plantio convencional- rotação pastagens; PD2= plantio direto - rotação cultivos; PC2= plantio convencional - rotação cultivos; *Hae*III e *Hinf*I= enzimas de restrição; Mix= *Hae*III/*Hinf*I; Pr NemF1/S3; Pr NS1/NS4.

Para cada estação e combinação primer/enzima, todos os parâmetros apresentaram diferenças entre os tratamentos, que foram em alguns casos, estatisticamente significativas. Por outro lado o  $H'$  e o índice de Simpson foram, como esperado, inversamente relacionados ( $P < 0,01$ ). A combinação NEMF1/S3 - *Hae*III mostraram diferenças em alguns índices de diversidade entre os tratamentos em todas as estações de amostragens. Contudo a enzima *Hinf*I com qualquer dos primers utilizados não produziram padrões de RFLP, que foram capazes de se diferenciarem, estatisticamente, entre os tratamentos estudados, pelo menos em um índice de diversidade. Para todas as estações de estudo, os menores índices de diversidade foram os obtidos com a combinação de NS1/NS4 /*Hae*III.

Os nematóides têm sido reconhecidos como indicadores de mudanças no ambiente do solo e sua ocorrência em grupos funcionais, têm o potencial de fornecer informações para muitos processos do solo (RITZ & TRUDGILL, 1999). Grupos funcionais de nematóides são indicadores de outros organismos com funções ecológicas semelhantes e, portanto, das respostas do ecossistema (por exemplo BONGERS, 1990; BONGERS & FERRIS, 1999; YEATES & BONGERS, 1999).

A validade do uso de alguma técnica molecular em estudos ambientais depende da obtenção de extratos representativo de ácidos nucleicos a partir de uma amostra ambiental. Métodos de extração de ácidos nucleicos, muitas vezes são ineficientes porque pode ocorrer a coextração de inibidores enzimáticos do ADN. Técnicas de lise direta têm sido usadas com frequência, porque produzem mais ADN. No entanto, a maior desvantagem dos métodos de lise direta é que são extraídos mais substâncias inibidoras de PCR junto com o ADN (LEFF et al., 1995). Nossos resultados mostram que não foram obtidos produtos visíveis de PCR após a maceração física direta em tampão TE. Os protocolos de extração de ADN usado para solos incluiu geralmente de um a três dos seguintes elementos básicos: ruptura física, lise química, e lise enzimática. Nesse experimento foi realizado o mesmo rompimento físico de nematóides, mas o tampão de extração química e /ou lise enzimática foi mudado.

A eficácia dos diversos componentes da lise química permanece largamente desconhecida. DONN et al. (2008) relataram que a extração do ADN de nematóides de amostras ambientais em que as misturas de lise continha o detergente dodecil sulfato de sódio [SDS] resultou em grande quantidade de ADN quantificável e produto da PCR. No entanto, neste experimento, o procedimento com a SDS não proporcionou um extrato de ADN de nematóides que pudesse ser amplificado pela PCR. Também foi incluída uma modificação das técnicas básicas da química de lise que incluía alta temperatura (90 ° C de ebulição) para a incubação (KUSKE et al., 1998; de SOUZA et al., 2004) e a incorporação de agente quelante, resina Chelex, para inibir nucleases e dispersar as partículas do solo (JACOBSEN et al., 1992). No entanto, este método falhou completamente, porque nem o ácido nucleico foi recuperado (leitura do espectro) nos extratos nem foi obtido um amplificado pela reação de PCR.

O CTAB é reconhecido por ajudar a remover materiais húmicos para a maioria dos solos que contêm altas concentrações de ácidos húmicos que inibem as enzimas da PCR. Foi relatado que o fenol/clorofórmio ajuda a tirar as proteínas do homogeneizado e remover uma boa parte dos componentes húmicos e pigmentos de solo (SCHNEEGURT et al, 2003). No nosso experimento, os extratos de DNA obtidos por outros métodos foram altamente pigmentados (dados não mostrados), mas o extrato obtido pelo método CTAB combinado com fenol/ clorofórmio/álcool isoamílico foi claro e livre de pigmentos. Embora o CTAB na lise química e a proteinase K na lise enzimática combinado com fenol, clorofórmio e álcool isoamílico era o método mais demorado, resultou em uma alta obtenção de ADN quantificável e produto da PCR.

A fim de utilizar técnicas moleculares para identificar diferentes grupos de nematóides, é exigido que uma região do ADN demonstre suficiente divergência para separar

as seqüências de diferentes grupos, mas suficiente coação, para evitar a saturação dos sítios informativos. Para as análises a nível comunitário, a universalidade das pequenas e grandes subunidade dos genes ribossomais (18S e 28S) pode ser usada (BLAXTER, 2004). No entanto, a pequena subunidade ribossomal (18S) é comumente utilizada para análise filogenética (BLAXTER et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2004) e análise ecológica de comunidades (FLOYD et al., 2002; FOUCHER & WILSON, 2002, WAITE et al., 2003), de nematóides.

As análises de RFLP são comumente utilizadas na obtenção de padrões de digestão diferentes. Neste trabalho, tratamentos de diferentes manejos agrícolas mostraram um padrão distinto de bandas RFLP. Foram utilizadas duas enzimas e uma mistura igual delas, de acordo com MOYER et al. (1994) que defende a conveniência de utilizar mais de uma enzima de restrição, ao tentar medir a diversidade usando esta técnica, já que atingiria um maior grau de resolução. A intensidade variável das bandas obtidas, para os diferentes tratamentos, pode ser explicada por diferentes densidades e composições das comunidades de nematóides em cada amostra.

GRIFFITHS et al. (2006) relatou que, a distinção entre os tipos de nematóides depende da quantidade de ADN e aproximadamente ao volume total (biomassa) de cada tipo de nematóide dentro de uma amostra, mais do que a abundância de cada espécime. No entanto, estão bem documentadas limitações à utilização de métodos moleculares em estudos de biodiversidade (QIU et al., 2001; von WINTZINGERODE et al., 1997).

Em alguns casos, os valores dos índices de diversidade obtidos foram superiores aos relatados por MONDINO et al. (2002) que calcularam o índice  $H'$  de condições experimentais similares, mas com base na determinação taxonômica clássica. O fato de que nossos valores do índice de Shannon ( $H'$ ) foram maiores na primavera para o tratamento testemunha (pastagem) e também nos tratamentos com rotação de pastagens nas culturas, pode estar relacionado à maior presença de nematóides com grande biomassa como são os onívoros e predadores e que se associam aos ambientes mais estáveis (FERRIS & FERRIS, 1974; BONGERS, 1990; NEHER & CAMPBELL, 1994; GOMES et al., 2003), tais como as pastagens.

No entanto, em outras situações, os métodos moleculares podem subestimar os índices de diversidade, como aconteceu nesta tese (CAPITULO I) mas está informação não foi desenvolvida por não formar parte dos objetivos da mesma. O fato pode estar relacionado com os métodos de perfis moleculares que usualmente evidenciam apenas os organismos dominantes (em volume do que em número), espécie muito rara frequentemente não são detectadas, mas muitas vezes essas espécies compõem a grande maioria da diversidade das comunidades (GANS et al., 2005; PEDRÓS-ALIÓ, 2006). Neste caso, a diversidade de táxons, mesmo aqueles que são detectados como dominantes, por taxonomia clássica, portanto, pode ser subestimado. Além disso, alguns pesquisadores relatam que os fragmentos de restrição do mesmo tamanho podem ser gerados a partir de vários táxons, que podem ser relacionados de maneira diferente (BLACKWOOD & BUYER, 2007; DUNBAR et al., 2001; ENGBRETSON e MOYER, 2003). Neste trabalho foram utilizados seis combinações de pares de primers e enzimas que exclui essa possibilidade. Desta forma, os valores do índice de diversidade foram semelhantes na Primavera para os tratamentos controle, quando foram determinados com as combinações de primers/enzima NEMF1/S3-*Hae*III e NEMF1/S3-Mix, os que podem ser selecionados para seguir os estudos.



#### **4. CONCLUSÕES**

Do estudo desenvolvido, onde se aplicaram ferramentas moleculares para a obtenção de padrões moleculares das comunidades de nematóides do solo em diferentes sistemas de cultivos no Pampa austral Argentino conclui-se que: a) a execução do método CTAB, foi uma metodologia simples e relativamente acessível, com capacidade de extrair DNA de forma consistente b) A abordagem molecular de RFLP permitiu a obtenção de perfis moleculares que permitiram o cálculo dos índices de diversidade, com sensibilidade suficiente para diferenciar diferentes sistemas de cultivos.

## CONCLUSÕES GERAIS

Do estudo desenvolvido onde foram comparados abundancia, diversidade, relações tróficas, índices de maturidade e os índices que avaliam a rede trófica do solo, como também a aplicação de ferramentas moleculares para a obtenção de padrões moleculares das comunidades de nematóides, para um solo sob diferentes sistemas de cultivos no Pampa austral Argentino conclui-se que: existiram diferentes grupos funcionais de nematóides indicadores das condições presentes nos diferentes tratamentos estudados. Os índices utilizados no estudo foram eficientes ferramentas para refletir a condição de perturbação como também o estado funcional da rede trófica do solo baseada na nematofauna. Por outra parte as ferramentas moleculares utilizadas permitiram a extração de ADN de nematóides do solo e tiveram a sensibilidade suficiente para diferenciar tratamentos sob diferentes sistemas de cultivo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALESHIN, V.V., O.S. KEDROVA, I.A. MILYUTINA, N.S. VLADYCHENSKAYA AND N.B. PETROV. Relationships among nematodes based on the analysis of 18S rRNA gene sequences: molecular evidence for monophyly of chromadorian and secernentian nematodes. *Russian Journal of Nematology* v.6, p. 175-184, 1998.
- ALPER SUSURLUK I., TOPRAK UMUT. Molecular identification of three entomopathogenic nematodes from turkey by PCR-RFLP of the ITS regions. *Phytoparasitica* v.34, p. 17-20, 2006.
- BALESDENT, J., CHENU, C., BALABANE, M. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil Tillage Research* v.53, p. 215-230, 2000.
- BAYER, C., MIELNICZUK, J., AMADO, T. J. C., MARTIN-NETO, L., FERNANDES, S. V. Organic matter storage in a sandy clay loam affected by tillage and cropping systems in southern Brazil. *Soil and Tillage Research* v.54, p. 101 – 109, 2000.
- BERKELMANS R; H FERRIS; M TENUTA, VAN BRUGGEN, A.H.C. Effects of long-term crop management on nematode trophic levels other than plant feeders disappear after 1 year of disruptive soil management. *Applied Soil Ecology* v. 23:223-235, 2003.
- BLACKWOOD, C.B., BUYER, J.S. Evaluating the physical capture method of terminal restriction fragment length polymorphism. *Soil Biology and Biochemistry*. 39:590-599, 2007.
- BLACKWOOD, C. B., HUDLESTON, D., ZAK, D. R., BUYER, J. S. Interpreting ecological diversity indices applied to terminal restriction fragment length polymorphism data: insights from simulated microbial communities, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 73, p. 5276–5283, 2007
- BLAXTER, M.L. The promise of a DNA taxonomy. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B* 359, 669–679, 2004.
- BLAXTER, M.L., DE LEY, P., GAREY, J.R., LIU, L.X., SCHELDEMAN, P., VIERSTRAETE, A., VANFLETEREN, J.R., MACKAY, L.Y., DORRIS, M., FRISSE, L.M., VIDA, J.T., THOMAS, W.K., A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature* v.392, p. 71–75, 1998.
- BLEVINS R.L., FRYE, W.W. Conservation tillage: an ecological approach to soil management. *Advances in Agronomy* v.51, p. 33-78, 1993.
- BONGERS, T. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* v.83, p. 14-19, 1990.
- BONGERS, T., VAN DER MEULEN, H., KORTHALS, G. Inverse relationship between the nematode maturity index and plant–parasite index under enriched nutrient conditions. *Applied Soil Ecology* v.6, p. 195–199, 1997.
- BONGERS, T., DE GOEDE, R.G.M., KORTHALS, G., YEATES, G.W. Proposed changes of c–p classification for nematodes. *Russian Journal of Nematology* v.3, p. 61–62, 1995.
- BONGERS, T., FERRIS, H. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends in Ecology and Evolution* 14, 224–228, 1999.
- BONGERS, T., BONGERS, M. Functional diversity of nematodes. *Applied Soil Ecol.* v.10, p. 239-251, 1998

- BONGERS, T., KORTHALS, G. The Maturity index, an instrument to monitor changes in the nematode community structure. Summaries of the 45<sup>th</sup> International symposium on Crop protection, Gent, Belgium. P.80, 1993.
- BRAY, R.H., KURTZ, L.T. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soil, *Soil Science*, v. 59, p. 360–361, 1945.
- BRMEZ M., IVEZIC, M., RASPUDIC E. Effect of mechanical disturbances on nematode communities in arable land. *Helminthologia*, v.2 p.117–121, 2006.
- CAVENESS, F.E., JENSEN, H.J. Modification of centrifugal flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. v.22, p. 87-89, 1955.
- CHAVES, E. J., ECHEVERRIA, M. M., TORRES, M. S. Clave para la determinar géneros de Nematodos del suelo de la República Argentina. Balcarce: UNMdP, 1995, pp. 91.
- CHAVES, E., G. CAP, M. TORRES, ECHEVERRÍA, M. 1998. Informe del plan de trabajo “Caracterización y distribución de nematodos de importancia cuarentenaria en la Provincia de Buenos Aires”. INTA. Programa 13-0173, EEA Balcarce, 19p.
- COLEMAN, D.C., REID, C.P.P., COLE, C.V. Biological strategies of nutrient cycles in soil systems. *Advances in Ecological Research*. v.13, p. 1-55, 1983.
- COLEMAN, D.C., EDWARDS A.L., BELSKY A.J., MWONGA, Y. S. The distribution and abundance of soil nematodes in East Africans savannas. *Biology and Fertility of Soils* v.12, p. 67-72, 1991.
- CURRY, J.P., GOOD, J.A. Soil fauna degradation and restoration. Pp. 171-215 In: R Lal & BA Stewart (eds.). *Advances in soil science*. Vol 17. Springer-Verlag. New York, USA. 1992.
- DARLING J.A., BLUM M.J. DNA-based methods for monitoring invasive species: a review and prospectus. *Biological Invasions* v.9, p. 751-765, 2007.
- de SOUZA, F.A., KOWALCHUK, GA., LEEFLANG P. , van VEEN J.A, SMIT, E. PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Profiling of Inter- and Intraspecies 18S rRNA Gene Sequence Heterogeneity Is an Accurate and Sensitive Method To Assess Species Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi of the Genus *Gigaspora*. *Applied and Environmental Microbiology* v.70, p. 1413–1424, 2004.
- DONN S, GRIFFITHS B.S, NEILSON R, DANIELL T.J. DNA extraction from soil nematodes for multi-sample community studies. *Applied Soil Ecology*, v. 38, p. 20-26, 2008.
- DUNBAR, J., TICKNOR, L.O., KUSKE, C.R. Phylogenetic specificity and reproducibility and new method for analysis of terminal restriction profiles of 16S rRNA genes from bacterial communities. *Applied Environmental Microbiology*. v.67, p. 190–197, 2001.
- ECHEVERRIA, H.E., FERRARI J.L. Relevamiento de algunas características de los suelos agrícolas del sudeste bonaerense., *Boletín Técnico* 112, Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce, 18 pp. 1993.
- ENGBRETSON, J. J. AND MOYER, C.L. Fidelity of select restriction endonucleases in determining microbial diversity by terminal-restriction fragment length polymorphism. *Applied Environmental Microbiology*, v. 69, p. 4823–4829, 2003.
- ETTEMA, C.H., BONGERS, T. Characterization of nematode colonization and succession in disturbed soil using the maturity index, *Biology and Fertility of Soils* v.16, p. 79–85, 1993.

- FERRIS, V. R., FERRIS, J. M. Inter-relationships between nematode and plant communities in agricultural ecosystems. *Agroecosystems* v.1, p. 275-299, 1974.
- FERRIS, H. New frontiers in nematode ecology. *Journal of Nematology* v.25, n.3, p. 374-382, 1993.
- FERRIS, H., VENETTE, R.C., LAU, S.S. Dynamics of nematode communities in tomatoes grown in conventional and organic farming systems and their impact on soil fertility. *Applied Soil Ecology* v.3, p. 161-175, 1996
- FERRIS, H., BONGERS, T., de GOEDE, R.G.M. Nematode faunal indicators of soil food web condition. *Journal of Nematology* v.31, p. 534-535, 1999.
- FERRIS, H., BONGERS, T., de GOEDE, R.G.M. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology* v.18, p. 13-29, 2001.
- FERRIS, H., T. BONGERS, DE GOEDE, R. Nematode faunal analyses to assess food web enrichment and connectance. *Nematology Monographs & Perspectives* v.2 p. 503-510, 2004.
- FLOYD, R., ABEBE, E., PAPERT, A., BLAXTER, M. Molecular barcodes for soil nematode identification. *Molecular Ecology* v. 11, p. 839-850, 2002.
- FOUCHER, A., WILSON, M. Development of a polymerase chain reaction-based genotyping gradient gel electrophoresis technique to study nematode species biodiversity using the 18S rDNA gene. *Mol. Ecol. Notes* 2, 45-48, 2002.
- FORTUNER, R., GERAERT, E., LUC, M., MAGGENTI, A. R., RASKI, D. J.A. reappraisal of *Tylenchina* (Nemata ). *Revue of Nematologie*, p. 188, 1988.
- FRECKMAN, D. W., ETTEMA, C. H. Assessing nematode community in agroecosystems of various human intervention. *Agriculture, Ecosystem and Environment* v.45, p. 239-261, 1993.
- FRECKMAN, D.W., BALDWIN J.G. *Nematoda In Soil Biology Guide: Dindal D.L. (Ed). John Wiley and Sons (Ed.). pp. 155-200, 1990.*
- GANS, J., WOLINSKY, M., DUNBAR, J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. *Science* v.309, p. 1387-1390, 2005.
- GARDES, M. AND BRUNS, T. D. ITS primers with enhanced specificity of basidiomycetes: application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* v.2, p. 113-118, 1993.
- GOMES, G.S., HUANG, S.P., CARES, J.E. Nematode community, trophic structure and population fluctuation in soybean fields. *Fitopatologia Brasileira* v.28, p. 258-266, 2003.
- GONZALEZ MONTANER, J., MADDONI, G., MAILLAND, N., POSBORG, M. Optimización de la respuesta a la fertilización nitrogenada en el cultivo de trigo a partir de un modelo de decisión para la Subregión IV (sudeste de la Provincia de Buenos Aires). *Ciencia del Suelo* v.9, p. 41-51, 1991.
- GOODEY, T. *Soil and freshwater nematodes*. 2nd edition. London: Methuen Publishing Ltd, 560 p. 1963.
- GRIFFITHS, B.S., DONN, S., NEILSON, R., DANIELL, T.J. Molecular sequencing and morphological analysis of a nematode community. *Applied Soil Ecology* v.32, p. 325-337, 2006.
- GUPTA, V.R. & YEATES, G.W. Soil microfauna as bioindicators of soil health. In *Biological Indicators of Soil Health* (eds. C.E. Pankhurst, B.M. Doube & V.R. Gupta), 1997 pp. 201 -234. CAB International, Oxon.

- HEAD, I.M., SAUNDERS, J.R., PICKUP, R.W. Microbial evolution, diversity, and ecology: a decade of ribosomal DNA analysis of uncultivated microorganisms. *Microbial Ecology* v. 35, p.1–21, 1998.
- HEIP, C., HERMAN, P. M. J., SOETAERT, K. Data processing, evaluation and analysis. In: Higgins, R. P. & Thiel, H. (Ed.). *Introduction to the study of mesofauna*. Washington, D. C.: Smithsonian Institution Press, 1988. pp. 197 – 231.
- HEYWOOD V.H., IRIONDO, J.M. Plant conservation: old problems, new perspectives, *Biological Conservation* v. 113, pp. 321–335, 2003
- HEYNS, J. A guide to the plant & soil nematodes of south Africa. Balkema, A. A. (Ed.). Cape Town: 1971. pp. 233.
- HIDEAKI I., ZEN-ICHI S., OGAWA, T. PCR-RFLP-Aided Survey of Principal Plant-Parasitic Nematodes Associated with Sweetpotato Fields in Central and Southern Parts of Kyushu, Japan. *Sweet Potato Research Front (Kyushu National Agricultural Experiment Station -KNAES)* n 11, 2001. disponível em: <http://konarc.naro.affrc.go.jp/sporf/no11/m4.html>. Acesso em 15 set. 2008.
- HOOPER, D.J. Extraction of free-living stages from soil. In: Southey, J.F. (Ed.), *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes*. Her Majesty's Stationery Office, London, 1986. pp. 5–30.
- HUANG, S. P. Ecologia de fitonematóides. In: Milton A.T. Vargas e Mariangela Hungria (Ed.), *Biologia dos Solos dos Cerrados*. Planaltina, DF: EMBRAPA/CPAC, 1997. pp. 447-463.
- INGHAM, R. E., TROFYMOOW J. A., INGHAM, E. R., COLEMAN, D. C. Interactions of bacteria, fungi, and their nematode grazers: Effects on nutrient cycling and plant growth. *Ecological Monographs* v.55, p.19 - 140, 1985.
- JACOBSEN, C. S., AND O. F. RASMUSSEN. Development and application of a new method to extract bacterial DNA from soil based on separation of bacteria from soil with cation-exchange resin. *Applied and Environmental Microbiology* v.58, p.2458–2462, 1992.
- JAIRAJPURI, M. S. & AHMAD, W. *Dorylaimida, free-living, predaceous and plant-parasitic nematodes*. New York: Brill, E. J. (Ed), 1992. pp. 457.
- KUSKE, C. R., K. L. BANTON, D. L. ADORADA, P. C. STARK, K. K. HILL, AND P. J. JACKSON. Small-scale DNA sample preparation method for field PCR detection of microbial cells and spores in soil. *Applied and Environmental Microbiology*. v.64, p. 2463–2472, 1998.
- LARNEY, F. J., BREMER, E., JANZEN, H. H., JOHNSON, A. M., LINDWALL, C. W. Changes in total, mineralizable and light fraction soil organic matter with cropping and tillage intensities in semiarid southern Alberta, Canada. *Soil and Tillage Research* v.42, p. 229 – 240, 1997.
- LEFF, L. G., DANA, J. R., McARTHUR J. V. AND L. J. SHIMKETS. Comparison of methods of DNA extraction from stream sediments. *Applied and Environmental Microbiology* v. 61, p.1141–1143, 1995.
- LINDEN, D.R., P. F. HENDRIX, D.C. COLEMAN, PETRA C. J., van VLIET, P.C.J. Faunal Indicators of soil Quality In: Doran, J.W. et al. (Ed.) *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison, WI.: Soil Science Society of America, Inc., Spec. Publ. 35., 1994 pp. 91-106.

- LIU, W., T. MARSH, T.L, CHENG, H., FORNEY, L.J. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* v.63, p. 4516-4522, 1997.
- MAGURRAN, A. E., *Ecological diversity and its measurements*. UK: Cambridge, University Press, 1988.
- MAGGENTI A.R.. *Nemata: higher classification*, pp. 147-187. In: Nickle W.R. (ed.) *Manual of Agricultural Nematology*. Marcel Dekker, Inc., New York. 1991.
- MARSH, T.L. Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP): an emerging method for characterizing diversity among homologous populations of amplification products. *Current Opinion in Microbiology* v.2, p. 323-327, 1999.
- MATTOS, J.K.A. *Nematóides do solo como indicadores da interferência humana nos sistemas naturais: aspectos gerais e alguns resultados obtidos no Brasil*. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*. v.10, p. 373-390, 2002.
- MILLER, D. N., BRYANT, J. E., MADSEN, E. L., W. C. GHIORSE. Evaluation and Optimization of DNA Extraction and Purification Procedures for Soil and Sediment Samples. *Applied and Environmental Microbiology* v.65, p. 4715-4724, 1999.
- MONDINO, E.A., CHAVES, E., G. STUDDERT. The effect of crop rotation and tillage systems on soil nematode trophic structure. <http://www.ifns.org/membership/events/ficn2002.html>
- MOYER, C. L., F. C. DOBBS, D. M. KARL, Estimation of diversity and community structure through restriction fragment length polymorphism distribution analysis of bacterial 16S rRNA genes from a microbial mat at an active hydrothermal vent system, Loihi Seamount, Hawaii. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 60, p. 871-879, 1994.
- NEHER, D. A., CAMPBELL, C. L. Nematodes communities and microbial biomass in soil with annual and perennial crops. *Applied soil Ecology* v.1, p.17-28, 1994.
- NEHER, D.A., CAMPBELL, C.L. Sampling for regional monitoring of nematode communities in agricultural soils. *Journal of Nematology* v.28, p. 196-208, 1996.
- NEHER, D.A., PECK, S.L., RAWLINGS, J.O., CAMPBELL, C.L. Measures of nematode community structure for an agroecosystem monitoring program and sources of variability among and within agricultural fields. *Plant and Soil* v.170, p. 167-181, 1995.
- NEHER, D. Role of nematodes in soil health and their use as indicators. *Journal of Nematology* v.33, p. 161-168, 2001.
- NEHER, D.A., DARBY, B.J. Computation and Application of Nematode Community Indices: General Guidelines In: Eyualem-Abebe et al. (Ed.) *Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy*. CABI, Ch. 11, p 211-222. 2006.
- NEHER, D.A., WU, J., BARBERCHECK, M.E., ANAS, O. Ecosystem type affects interpretation of soil nematode community measures. *Applied Soil Ecology* v.30, p. 47-64, 2005.
- NILES RK, FRECKMAN, D.W. From the ground up: nematode ecology in bioassessment and ecosystem health. In: Barker KR, Pederson GA, Widham GL (eds). *Plant-nematode interactions*. Agronomy Monograph. Madison WI: Amer Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America. 1998. p 65-85.
- NORTON. D. C. *Ecology of plant parasitic nematodes*. John Wiley & Sons New York: 1978. 268p.

- OLIVEIRA, C.M.G., HUBSCHEN, J., BROWN, D.J.F., FERRAZ, L.C.C.B., WRIGHT, F., NEILSON, R. Phylogenetic relationships among Xiphinema and Xiphidorus nematode species from Brazil inferred from 18S rDNA sequences. *Journal of Nematology* v. 36, p. 153–159, 2004.
- PARMELEE, R.W., BOHLEN, P.J., EDWARDS, C.A. Analysis of nematode trophic structure in agroecosystems: functional groups versus high resolution taxonomy. In: H.P. Collins, G.P. Robertson and M.G. Klug, (Eds), *The Significance and Regulation of Biodiversity*, Amsterdam: Kluwer Academic, 1995, pp. 203–207.
- PEDRÓS-ALIÓ, C. Marine microbial diversity: can it be determined? *Trends in Microbiology* v.14, p.257–263, 2006.
- PIELOU, P. C. *Mathematical ecology*. John Wiley & Sons, New York: 1977.159 p.
- POLIS, G. A. Complex desert food webs: an empirical critique of food web theory. *American Naturalist* v.138, p. 123-155, 1991.
- PORAZINSKA, D.L., DUNCAN, L.W., MCSORLEY, R., GRAHAM, J.H. Nematode communities as indicators of status and processes of a soil ecosystem influenced by agricultural management practices. *Applied Soil Ecology* v.13, p. 69-86, 1999.
- POWER, J. F., PETERSON, G. A. Nitrogen transformations, utilization and conservation as affected by fallow tillage method. *Soil and Tillage Research* v.49, p. 37 – 47, 1998.
- RITZ, K., TRUDGILL, D.L. Utility of nematode community analysis as an integrated measure of the functional state of soils: perspectives and challenges, *Plant Soil* v.212, p 1–11, 1999.
- QIU, X. Y., L. Y. WU, H. S. HUANG, P. E. MCDONEL, A. V. PALUMBO, J. M. TIEDJE, AND J. Z. ZHOU. Evaluation of PCR-generated chimeras: mutations, and heteroduplexes with 16S rRNA gene-based cloning. *Applied Environmental Microbiology* v. 67, p. 880–887. 2001.
- SALINAS-GARCIA, J. R., HONS, F. M., MATOCHA, J. E., ZUBERER, D. A. Soil carbon and nitrogen dynamics as affected by long-term tillage and nitrogen fertilization. *Biology and Fertility of Soils* v.25, p. 182 – 188, 1997.
- SAMOILOFF, M. R. Nematodes as indicator of toxic environmental contaminants. In: Painter, E. O., DeLeon. *Vistas on Nematology*. Springs, FL: J. A. Veech & D. W. Dickson (Eds), 1987. p. 433-439.
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E., MANIATIS, T. Molecular cloning. In: *A Laboratory Manual*, second ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 1989.pp.1659.
- SÁNCHEZ-MORENO, S, H FERRIS. Suppressive service of the soil food web: effects of environmental management. *Agricultural, Ecosystems & Environment* v.119, p. 75-87, 2007.
- SÁNCHEZ-MORENO, S., MINOSHIMA, H., FERRIS. H., JACKSON, L.E. Linking soil properties and nematode community composition: effects of soil management on soil food webs. *Nematology* v. 8, p. 703-715, 2006.
- SÁNCHEZ-MORENO, S., SMUKLER, S., FERRIS, H., O'GEEN A.T., JACKSON, L.E. Nematode diversity, food web condition, and chemical and physical properties in different soil habitats of an organic farm. *Biology and Fertility of Soils* v.44, p. 727– 744, 2008.
- SÁNCHEZ-MORENO, S., N.L. NICOLA, H. FERRIS, ZALOM, F.G. Effects of agricultural management on nematode-mite assemblages: Soil food web indices as predictors of mite community composition. *Applied Soil Ecology* v. 41 p. 107-117, 2009.
- SAS. *User's Guide: Statistics Release 6.03* SAS Inst., Inc (Ed.), Cary, NC: 1988.



- Schneegurt, M. A., S. Y. Dore, AND C.F. Kulpa, JR. Direct Extraction of DNA from Soils for Studies in Microbial Ecology. *Current Issues in Molecular Biology*. v.5, p. 1-8, 2003.
- SEINHORST, J. W. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerine. *Nematologica* v.4, p. 67-69, 1959.
- SIDDIQUI, R. M. Tylenchida parasites of plants and insects. United Kingdom: St Albans, Commonwealth Institute of Parasitology, 1985. 645 pp.
- STUDDERT, G. Manejo de rastrojo en superficie. In: Actas 14 Jornada anual de actualización profesional, 1996, Mar del Plata. 14 Jornada anual de actualización profesional. Cosecha Gruesa. Actas: Set./1996, p. 1-7.
- STUDDERT, G., ECHEVERRIA H.E., CASANOVAS, E.M. Crop-Pasture rotation for sustaining the quality and productivity of a typic argiudoll. *Soil Science Society of America Journal* v.61, p.1466-1472, 1997.
- SWIFT, M.J., HEAL, O.W., ANDERSON J.M. Decomposition in terrestrial ecosystem. Berkeley: University of California Press, 1979.
- TENUTA, M., FERRIS, H. Sensitivity of Nematode Life-History Groups to Ions and Osmotic Tensions of Nitrogenous Solutions, *Journal of Nematology* v.36, p.85-94, 2004.
- TWINN, D. C. Nematodes. In: *Biology of plant litter decomposition*. London: Academic Press, 1974. p. 421-465.
- van DIEPINGEN, A.D., O.J. DE VOS, G.W. KORTHALS, VAN BRUGGEN A.H.C. Effects of Organic versus conventional management on chemical and biological parameters in agricultural soils. *Applied Soil Ecology* v. 31 p. 120-135, 2006.
- VIERSTRAETE A. (2009). Extraction of gDNA from a lot of nematodes (from cultures) with CTAB. Homepage and protocol available in <http://users.ugent.be/~avierstr/protocols/extraction.html#CTAB>
- VILLENAVE, C., BONGERS, T., EKSCHMITT, K., DJIGAL, D., CHOTTE, J.L. Changes in nematode communities following cultivation of soils after fallow periods of different length. *Applied Soil Ecology* v.17, p. 43-52, 2001.
- von WINTZINGERODE, F., U. B. GOBEL, STACKEBRANDT, E. Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of pcr-based rna analysis. *FEMS Microbiology Reviews* v. 21, p. 213-229. 1997.
- WAITE, I.S., A.G. O'DONNELL, A. HARRISON, J.T. DAVIES, S.R. COLVAN, K. EKSCHMITT, H. DOGAN, V. WOLTERS, T. BONGERS, M. BONGERS, G. BAKONYI, P. NAGY, E.M. PAPTAEODOROU, G.P. STAMOU AND S. BOSTROM. Design and evaluation of nematode 18S rDNA primers for PCR and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of soil community DNA, *Soil Biology & Biochemistry* v. 35 p. 1165-1173, 2003
- WALL, D.H., MOORE, J.C. Interactions underground: Soil biodiversity, mutualism, and ecosystem processes. *BioScience*. v.49, p.109-117,1999.
- WARDLE D.A., YEATES , G.W. The dual importance of competition and predation as regulatory forces in terrestrial ecosystems: evidence from decomposer food-webs. *Oecologia* v.93, p. 303-306, 1993
- WARDLE, D.A., YEATES, G.W., WATSON, R.N., NICHOLSON, K.S. Development of the decomposer food-web, trophic relationships, and ecosystem properties during a three-year primary succession of sawdust. *Oikos* v.73, p. 155- 166, 1995.

- WASILEWSKA, L. Long-term changes in communities of soil nematodes on fen peat meadows due to the time since their drainage. *Ekologia Polska*, v.39 n. 2, p. 59-104, 1991.
- WASILEWSKA, L. The effect of age of meadows on succession and diversity in soil nematode communities. *Pedobiologia* v.38, p. 1–11, 1994.
- WHITE TJ, BRUNS T, LEE S, TAYLOR J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds), *PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications*. Academic Press, New York, 1990. pp. 315–322.
- YEATES, G.W. Modification and qualification of the nematode Maturity Index. *Pedobiologia* v.38, p. 97–101, 1994
- YEATES, G. W., BONGERS, T., de GOEDE, R. G. M., FRECKMAN, D. W., GEORGIEVA, S. S. Feeding habits in soil nematode families and genera - an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology* v.25, p. 315-331, 1993.
- YEATES, G.W., HUGHES, K.A. Effect of three tillage regimes on plant and soil nematodes in an oats/maize rotation. *Pedobiologia* v.34 p. 379-387. 1990.
- YEATES, G.W. Effects of plants on nematode community structure, *Annual Review of Phytopathology*, vol. 37, p. 127-149, 1999.
- YEATES, G.W., WARDLE, D.A., WATSON, R.N. Responses of soil nematode populations, community structure, diversity and temporal variability to agricultural intensification over a seven-year period. *Soil Biology and Biochemistry* v.31, p. 1721-1733, 1999.
- YEATES, G.W. Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspect. *Biology and Fertility of Soils* v.37, n. 4, p. 199-210, 2003.
- YEATES, G.W. Variation in soil nematode diversity under pasture with soil and year. *Soil Biology and Biochemistry* v.16, p. 95–102, 1984.
- ZHOU, J., M. A. BRUNS, AND J. M. TIEDJE. DNA. recovery from soils of diverse composition. *Applied and Environmental Microbiology* . 62:316–322, 1996.