



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARINA YUMI HORTA MIYAUCHI

**PROPRIEDADES MICROBIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO
CICLO DO CARBONO EM SOLO SOB DIFERENTES
COBERTURAS VEGETAIS**

Londrina
2007

MARINA YUMI HORTA MIYAUCHI

**PROPRIEDADES MICROBIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO
CICLO DO CARBONO EM SOLO SOB DIFERENTES
COBERTURAS VEGETAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira

Londrina
2007

MARINA YUMI HORTA MIYAUCHI

**PROPRIEDADES MICROBIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS
DO CICLO DO CARBONO EM SOLO SOB DIFERENTES
COBERTURAS VEGETAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira
(orientador)
CCB/MIB/UEL

Prof. Dr. Galdino Andrade Filho
CCB/MIB/UEL

Prof. Dr. Waldemar Zangaro Filho
CCB/BAV/UEL

Profa. Dra. Márcia Cristina Furlaneto
(suplente)
CCB/MIB/UE

Dra. Diva de Souza Andrade (suplente)
IAPAR Londrina

Londrina, 20 de fevereiro de 2007.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira, pelos quatro anos de orientação, amizade, companheirismo, paciência, cuidado, ajuda, compreensão e até as suas críticas mais severas que contribuíram positivamente para minha formação como pesquisadora e pessoa.

Ao Prof. Dr. Galdino Andrade Filho, que também forneceu apoio substancial para realização dos projetos desenvolvidos durante meu período no laboratório.

À amiga e colega de laboratório Dáfila dos Santos de Lima, que me acompanhou, ajudou e apoiou durante estes quatro anos.

A todos os colegas e amigos do laboratório, pela amizade, bons momentos e espírito

de equipe na hora de realizar as tarefas do laboratório e colegas de mestrado que fizeram a disciplina de microbiologia ambiental, pela ajuda no campo e nas análises.

Aos meus pais, pela maravilhosa educação, carinho, apoio, e tudo de bom que fizeram. Vocês são o máximo!!

Ao meu namorado, pelo apoio e compreensão, além de carinho amor dedicação e paciência nestes dois anos de mestrado que culminaram em oscilações de humor de proporções desumanas.

A todos meus amigos, que direta ou indiretamente me ajudaram na realização deste trabalho.

MIYAUCHI, Marina Y.H. **Propriedades microbiológicas e bioquímicas do ciclo do carbono em solo sob diferentes coberturas vegetais.** 2006/2007. 45f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

RESUMO

Os distúrbios causados pela interferência humana no ambiente demandam atenção quanto a alterações nas propriedades químicas, físicas, microbiológicas e bioquímicas do solo, as quais podem ser usadas como indicadoras de sustentabilidade de um determinado ecossistema terrestre. O objetivo desse trabalho foi avaliar algumas propriedades microbiológicas e bioquímicas relacionadas ao ciclo do carbono em solo sob quatro diferentes coberturas vegetais (vegetação nativa - NAT, área reflorestada com araucária - AR, área reflorestada com pinus - PI e área agrícola com culturas anuais - AGR) no município de Irati-PR. Amostras compostas (0-10 cm) foram obtidas de oito transectos representativos de cada cobertura vegetal. As análises realizadas foram baseadas em métodos de cultivo microbiano (Bactérias heterotróficas, fungos cultiváveis, grupos funcionais de microrganismos amilolíticos e celulolíticos), atividade e metabolismo microbiano (respirometria, biomassa microbiana de carbono, relação C/N da biomassa microbiana e coeficiente metabólico), atividades enzimáticas (amilase, celulase e desidrogenase), argila dispersa em água e variáveis denominadas explicativas, as quais têm influências sobre as variáveis anteriores (carbono orgânico total, carboidratos solúveis em água quente, umidade do solo e pH). Os diferentes usos e coberturas vegetais alteraram as características bioquímicas e microbiológicas relacionadas ao ciclo do carbono no solo. A área AGR apresentou as maiores alterações, seguida do reflorestamento com a espécie exótica PI, enquanto que a área reflorestada com espécie nativa AR apresentou maior semelhança com a floresta nativa (NAT). Houve maior ocorrência de microrganismos cultiváveis em AGR, embora tivesse apresentado a menor biomassa microbiana de C e desprendimento de CO₂. Isso sugere que a maior ocorrência destes microrganismos em AGR foi resultante de uma seleção que os favoreceu em decorrência da menor diversidade e da menor competição microbiana. O teor de carbono total foi maior em NAT, assim como a biomassa microbiana de C e o desprendimento de CO₂, o que reforça a importância da matéria orgânica na comunidade microbiana. O qCO₂ não apresentou diferenças significativas entre as áreas, mas houve uma tendência a ser maior em AGR. Celulase e amilase demonstraram tendência contrária à dos grupos funcionais, com maior atividade nas áreas florestais, principalmente PI. A análise canônica correspondente indicou que o carbono orgânico e a umidade foram os fatores que mais influenciaram as atividades de celulase e amilase. A análise de componentes principais indicou maiores semelhanças entre NAT e AR, enquanto AGR se diferenciou das áreas sob floresta nativa ou reflorestada. Os resultados indicam que o reflorestamento com espécie nativa tende a tornar os atributos relacionados ao ciclo do C no solo mais semelhantes à área nativa do que quando se usa uma espécie exótica.

Palavras-chave: *Araucaria angustifolia*. Bioindicadores. *Pinus taeda*. qualidade de solo. reflorestamento.

MIYAUCHI, Marina Y.H. **Microbial and biochemical properties of carbon cycle in soil under different vegetal coverings. 2006/2007.** 45f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

ABSTRACT

Disturbances caused by anthropogenic interference in the environment require attention with regard to changes on physical, chemical, biochemical, and microbial soil properties which may be used as indicators of sustainability of a terrestrial ecosystem. The aim of this work was to appraise some microbial and biochemical soil properties related to C cycling under four different vegetal covering (native forest with *Araucaria angustifolia* – NAT; reforestation with *Araucaria* – AR; reforestation with *Pinus taeda* – PI; and agricultural soil with annual crops – AGR) at Irati PR, southern Brazil. Composed soil samples were taken (0-10 cm) in 8 random transects representative from each soil covering. Soil analyses were based on culture-based methods (heterotrophic bacteria, cultivable fungi, microbial functional groups of cellulolytic and amylolytic microorganisms), activity and microbial metabolism (CO₂ evolution, C microbial biomass, C to N ratio of microbial biomass, and metabolic coefficient), enzyme activities (amylase, cellulase and dehydrogenase), water-dispersed clay and some variables so called explanatory (hot-water soluble carbohydrates, total soil carbon, soil humidity, and pH). The different soil use and covering changed the microbial and biochemical soil properties related to the C cycle. The AGR area showed greater changes, followed by the reforestation with the exotic species PI, while the reforestation with the native species (AR) showed similarity with the native forest (NAT). The cultivable microorganisms showed more occurrences in AGR, although this system had showed the lowest C microbial biomass and CO₂ evolution. The greater occurrence of such microorganisms in AGR is supposed to be due to a selection of such microbial groups that were privileged in detriment of microbial diversity and lower microbial competition in that environment. Higher contents of total organic C were found in NAT, likewise to C microbial biomass and CO₂ evolution, showing the importance of organic matter on the microbial community. The qCO₂ did not differ among the different soil use, but tended to be higher in AGR. Cellulase and amylase activities were opposite to the microbial functional groups and showed greater activities in areas under forest, mainly PI. The canonical correspondent analysis showed that the total organic carbon and soil humidity were the factors which more influenced amylase and cellulase activities. The principal component analysis indicated more similarity between NAT and AR, while AGR differed from the areas under forest, either native or reforested. The results point out that the reforestation with native species brings about the attributes related to the soil C cycling to levels similar to the native forest as compared to the reforestation with exotic species.

Keywords: *Araucaria angustifolia*. Bioindicators. *Pinus taeda*. Reforestation. Soil quality.

Sumário

1. Introdução	01
2. Objetivos	02
3. Revisão bibliográfica	03
3.1. Ambiente, manejo do solo e bioindicadores de qualidade....	03
3.2. Matéria orgânica do solo e biomassa microbiana.....	05
3.3. Grupos funcionais de microrganismos do solo	10
3.4. Atividade microbiana e coeficiente metabólico (qCO ₂).....	12
3.5. Enzimas do solo.....	14
4. Referências bibliográficas	17
5. Artigo: Propriedades microbiológicas e bioquímicas do ciclo do carbono em solo sob diferentes coberturas vegetais.	21
5.1. Introdução.....	22
5.2. Material e métodos	24
5.3. Resultados	28
5.4. Discussão	34
5.4.1. Análises não biológicas.....	34
5.4.2. Microrganismos cultiváveis	35
5.4.3. Biomassa e atividade microbianas.....	36
5.4.4 Atividades enzimáticas.....	38
5.4.5. Análise integrada dos resultados	40
5.5. Conclusões	42
5.6. Referências bibliográficas.....	43

1. INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com relação aos distúrbios causados pela ação antrópica no ambiente é cada vez mais premente, o que demanda a busca por indicadores que visam avaliar se esses efeitos podem levar à degradação ambiental. Alterações causadas no ambiente geralmente também implicam em alterações no solo, a base de sustentação dos ecossistemas terrestres. Os ciclos biogeoquímicos são processos naturais de reciclagem da matéria e são em grande parte dependentes de processos realizados por microrganismos. Portanto, alterações na comunidade microbiana do solo poderão também afetar estes ciclos. Por sua vez, os microrganismos são sensíveis às interferências antrópicas no solo, o que os torna promissores indicadores de distúrbios. Devido à sua natureza biológica e atuação nos ciclos biogeoquímicos, as enzimas do solo também podem ser sensíveis indicadores de alterações da qualidade de solo decorrentes do seu uso e cobertura vegetal.

Diferentes coberturas vegetais e manejo podem causar alterações físicas, químicas e biológicas do solo, muitas vezes com resultados negativos para a sustentabilidade do ambiente. Estas alterações podem ocorrer por diversos fatores, como, por exemplo, diferenças quantitativas e qualitativas dos resíduos orgânicos que retornam ao solo, aplicação de produtos químicos empregados na agricultura (fertilizantes e pesticidas), revolvimento do solo, compactação, ressecamento causado pela exposição ao sol e ao vento.

A comunidade microbiana influi na agregação do solo, controle de fitopatógenos, além de ser responsável por diversos processos envolvendo ciclos de nutrientes como fósforo, nitrogênio, enxofre e carbono. Os microrganismos que participam do ciclo do carbono realizam sua mineralização e síntese de novas moléculas a partir de compostos orgânicos que compõem os tecidos vegetais, animais e também tecidos microbianos. Estes microrganismos são pertencentes a diferentes grupos funcionais que são nomeados de acordo com o substrato que degradam, como

por exemplo, os celulolíticos e amilolíticos, que degradam respectivamente celulose e amido. A ação desses microrganismos ocorre por meio de enzimas hidrolíticas, chamadas exoenzimas, como as amilases e celulasas, que hidrolisam o amido e a celulose aos seus monômeros que são utilizados como fonte de energia e carbono. Essas enzimas podem manter sua atividade catalítica no solo por longo tempo, ficando protegidas de proteases por interações com os minerais de argila e as substâncias húmicas do solo. A enzima desidrogenase é participante do metabolismo microbiano e pode representar o nível de atividade biológica no solo. Outra forma de avaliar a atividade microbiana é através da respirometria, que mede a taxa de mineralização do carbono feita através da respiração dos microrganismos existentes no solo. A razão entre respirometria e a biomassa microbiana fornece o quociente metabólico (qCO_2), que representa a taxa respiratória por unidade de biomassa microbiana. Este quociente é um importante indicador do nível de estresse em que se encontra a comunidade microbiana habitante de um solo sob distúrbio.

O conjunto de informações sobre ocorrência e atividade de microrganismos que participam de importantes funções no solo, como os ciclos biogeoquímicos, pode contribuir para o melhor entendimento dos efeitos das ações antrópicas sobre a sustentabilidade do ambiente.

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo avaliar as alterações que diferentes coberturas vegetais e uso do solo (vegetação nativa; reflorestamento com espécie nativa – *Araucaria angustifolia*; reflorestamento com espécie exótica – *Pinus taeda* e área agrícola) podem causar na ocorrência de grupos funcionais, atividade metabólica e enzimática da comunidade microbiana do solo relacionadas à ciclagem do carbono no solo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Ambiente, manejo do solo e bioindicadores de qualidade

A ação do homem no ambiente tem recebido especial atenção vista a degradação por ela causada. Esta degradação tem inúmeras vertentes, como a exploração de minérios, engenharia civil e agricultura intensiva (HARRIS, 2003). Uma vegetação nativa em estado clímax em um ecossistema é considerada auto-sustentável e geralmente se encontra em equilíbrio. Com a retirada da cobertura vegetal nativa, este equilíbrio é perturbado e alguns processos microbianos relacionados ao fluxo de nutrientes e carbono podem ser afetados (LI et al., 2004; IZQUIERDO et al., 2005). A cobertura vegetal original contribui para manter uma comunidade biológica estável no solo, além de fornecer carbono e energia através dos exsudatos das raízes e restos vegetais (PASCUAL et al., 2000). A sua retirada pelo desmatamento resulta em maior flutuação de temperatura do solo, erosão eólica e hídrica, ressecamento, compactação, dentre outros fatores que alteram o teor de matéria orgânica do solo e a atividade microbiana.

O solo, ambiente onde habitam microrganismos fundamentais nos ciclos biogeoquímicos do carbono, nitrogênio, fósforo, enxofre, dentre outros, tem na sua preservação uma das principais bases da sustentabilidade ambiental. Para avaliar os efeitos da ação humana sobre os componentes biológicos nesses ambientes, várias estratégias têm sido adotadas, dentre elas o uso de índices de qualidade de solo baseados em indicadores biológicos (VELASQUEZ et al., 2007). Esses indicadores têm a finalidade de identificar melhores estratégias de manejo e uso do solo, importantes principalmente em áreas tropicais, onde as taxas de desmatamento são alarmantes, a fertilidade natural do solo é menor, com maior susceptibilidade à degradação (SPACCINI et al., 2001).

O principal desafio na interpretação dos índices de qualidade de solo é saber o que significam, visto que não existem parâmetros pré-estabelecidos. Uma alternativa seria a comparação dos índices e/ou valores com aqueles obtidos de áreas adotadas como referência. Uma mata nativa em estado clímax é considerada um sistema em equilíbrio e auto-sustentável, onde a ciclagem do carbono e dos nutrientes encontra-se num estado de equilíbrio, que poderia ser adotado como referência. Dentre os indicadores de qualidade do solo, destacam-se os baseados em processos microbiológicos, densidade de grupos funcionais de microrganismos, biomassa e diversidade microbianas, que são ferramentas úteis na determinação da resposta de um ambiente a um determinado manejo ou estratégia de uso do solo (NOGUEIRA et al., 2006).

Silveira et al. (2004) analisaram três áreas naturais comparando-as com três áreas degradadas em diferentes estágios de recuperação. Em todas as áreas consideradas naturais, os valores dos parâmetros avaliados foram superiores aos das áreas em recuperação. Resultados semelhantes foram encontrados por Dinesh et al. (2003), que analisaram florestas decíduas, semi-perenes e plantações de *Pterocarpus dalbergioides* e *Tectona grandis*, obtendo maiores valores de atividade microbiana nas áreas naturais, o que foi atribuído à maior quantidade de matéria orgânica disponível. Bastida et al. (2006) avaliaram a atividade microbiológica em solos 15 anos após o desmatamento, verificando que houve efeitos negativos na qualidade do solo, o que foi mostrado pela diminuição dos teores de matéria orgânica e atividade microbiana em relação à área natural. Assis Júnior et al. (2003) avaliaram sistemas agroflorestais, monoculturas, área desmatada e mata natural, verificando que a atividade biológica foi maior nas áreas florestais e em áreas de pasto do que nas áreas com eucalipto intercalado com culturas anuais e área desmatada, o que foi atribuído ao fato de que solos com eucalipto possuem maior relação C/N, indicando a presença de materiais de degradação mais lenta como lignina e celulose, e menor teor de bases trocáveis.

Velasquez et al. (2007) estabeleceram índices de qualidade de solo em oito diferentes manejos e verificaram que a plantação de café apresentou os melhores índices, enquanto que a floresta secundária apresentou índices piores. Isso foi atribuído ao fato de que o solo sob floresta secundária havia sido muito degradado previamente pelo uso intensivo, prejudicando a sua recuperação. Entretanto, a plantação de café teria recebido manejo adequado, como por exemplo, adubação e não revolvimento do solo, o que favoreceu a melhora da qualidade do solo.

Solos submetidos a intenso cultivo apresentaram baixa capacidade de restabelecimento da vegetação, podendo ser considerados degradados. Caso não sejam adotadas estratégias para sua recuperação, a degradação desses solos poderá ser ainda mais intensa, como por exemplo, a ocorrência de processos erosivos mais intensos, agravados pela dificuldade do restabelecimento da cobertura vegetal natural (PASCUAL et al., 2000). Entretanto, deve se levar em consideração que a avaliação da recuperação de solo degradado por meio da recuperação da cobertura vegetal, diversidade florística e fauna silvestre, não refletem a condição microbiológica e a funcionalidade dos solos em recuperação e evidenciam a grande discrepância existente entre atributos microbiológicos e bioquímicos das áreas em recuperação em relação às consideradas naturais (SILVEIRA et al., 2004).

3.2. Matéria orgânica do solo e biomassa microbiana

O armazenamento e dinâmica do carbono do solo têm recebido atenção substancial devido às mudanças climáticas (ANDERSSON et al., 2004). A principal forma de carbono encontrada no solo é a matéria orgânica, que é a fração humificada, originada de processos microbianos de degradação e síntese a partir de material orgânico de origem vegetal, animal e microbiana (IZQUIERDO et al., 2005). A matéria orgânica do solo é a principal fonte de carbono e energia para os microrganismos e também é fonte de nutrientes para as plantas. É responsável por significativa porção da capacidade de troca de cátions (CTC) do solo, principalmente nos solos tropicais

altamente intemperizados, além de aumentar a capacidade de retenção de água e a estabilidade de agregados do solo. A incorporação de matéria orgânica ao solo reduz sua densidade global e, conseqüentemente aumenta a porosidade total, o que tem um efeito positivo no crescimento vegetal (IZQUIERDO et al., 2005). Alterações causadas pela agricultura causam declínio significativo na matéria orgânica do solo ao longo do tempo (RIFFALDI et al., 2002), o que leva à degradação das suas propriedades físicas, químicas e biológicas (LI et al., 2004; LEMENIH et al., 2005). Bastida et al. (2006) verificaram que mesmo 15 anos após o desmatamento e início da regeneração da cobertura vegetal, as atividades microbianas e bioquímicas no solo foram menores em relação às encontradas na área não desmatada, o que foi atribuído à menor entrada de matéria orgânica na área desmatada.

Sistemas alternativos de produção agrícola que utilizam fertilizantes orgânicos e promovem a rotação de culturas geralmente favorecem ao aumento dos teores de matéria orgânica do solo (ADESODUN et al., 2001; NAYAK et al., 2007; SHARADA e SAHU, 2004). Entretanto, a recuperação dos teores de matéria orgânica do solo não pode ser alcançada facilmente. Em solo coberto por floresta secundária em regeneração há vinte anos, os níveis de matéria orgânica encontrados ainda foram inferiores aos encontrados na floresta nativa adjacente (NOGUEIRA et al., 2006). Acredita-se que a recuperação dos teores de matéria orgânica em solo degradado a níveis correspondentes aos de uma floresta madura pode levar de 60 a 100 anos.

O pH do solo é um dos principais fatores que influenciam a atividade microbiana, produção de enzimas, crescimento microbiano, e, por conseguinte, a degradação da matéria orgânica. De acordo com Anderson (2003), a relação $C_{mic}:C_{org}$ aumenta com o pH, mas há uma relação inversa com o qCO_2 , o que sugere condições mais adequadas à comunidade microbiana em condições de pH mais elevado. Han et al. (2007), comparando plantações de chá de diferentes idades com áreas sob floresta nativa na China, encontraram valores de pH variando de 3 a 5, com os valores nas plantações significativamente mais baixos que na floresta adjacente. Por outro lado, os

valores de pH em áreas nativas em ambientes tropicais geralmente são naturalmente mais baixos que os encontrados em áreas cultivadas (IZQUIERDO, 2005).

A conversão de florestas em áreas agrícolas é geralmente acompanhada por um declínio no conteúdo de carbono orgânico do solo (LEMENIH et al., 2005). Em estudo em áreas florestais e agrícolas, os valores de carbono total foram 50% a 75% menores nas áreas agrícolas em comparação com áreas sob floresta (SPACCINI et al., 2001). Santos et al. (2004) avaliaram o teor de carbono orgânico em solo sob diferentes sistemas de manejo e encontraram maiores valores em plantio direto e área natural, contrariamente ao plantio convencional, com os menores valores. Isso foi atribuído ao não revolvimento do solo, o que resultou em menor mineralização dos resíduos orgânicos no sistema de plantio direto. Pôde-se, ainda, verificar uma redução de apenas 5% no teor de carbono orgânico do solo sob plantio direto há 17 anos, em comparação ao solo sob condições naturais.

Os carboidratos são compostos orgânicos de fórmula $C_x(H_2O)_y$ que abrangem mono, oligo e polissacarídeos provenientes da serrapilheira, exsudatos de raízes, animais e microrganismos. Estes compostos abrangem de 5% a 25% do carbono total do solo, e são componentes facilmente afetados pelo manejo. Constituem fonte de energia para os microrganismos do solo, além de agirem como agentes estabilizantes temporários dos agregados do solo (SPACCINI et al., 2001). Podem também alterar outras propriedades do solo como a capacidade de troca de cátions, retenção de ânions, metabolismo de carbono e atividade biológica (SAFARIK e SANTRUCKOVÁ, 1992).

Pascual et al. (2000) verificaram que em solos abandonados, os carboidratos solúveis, a fração mais lábil da matéria orgânica, estavam em quantidades significativamente menores em relação às quantidades encontradas nas áreas com vegetação natural. As classes de agregados de tamanho pequeno (< 1 mm) possuíam maiores teores de carboidratos totais quando comparadas com agregados de tamanho grande (1 a 4,75 mm), indicando que estes estão mais protegidos em agregados de

tamanho pequeno nos solos. Entretanto, o cultivo do solo reduziu a quantidade de carboidratos nos agregados de todos os tamanhos. Deve-se lembrar que grande parte dos carboidratos do solo é de origem microbiana, como as mucilagens e gomas extracelulares que contribuem com a agregação temporária do solo (SPACCINI et al., 2001).

Adesodun et al. (2001), avaliando a adição de resíduos orgânicos de palha de arroz e esterco de frango, acompanhados ou não de fertilizante químico em solos tropicais, verificaram que houve um aumento no teor de carboidratos no solo, seguido de um declínio de 41,3% entre o 3º e o 12º mês. As frações de carboidratos neste trabalho não contribuíram para a estabilização dos agregados do solo, mas a adubação contribuiu para o aumento de matéria orgânica total do solo, a qual decaiu com o tempo após a adubação. Esse aumento transitório da matéria orgânica pode ser atribuível ao aumento do crescimento das plantas e da comunidade microbiana enquanto há disponibilidade adequada de nutrientes.

Diferentes frações de carboidratos do solo foram avaliadas por Ball et al. (1996) e concluíram que os carboidratos solúveis em água quente, que estão envolvidos com a estabilização dos agregados do solo, são formados principalmente por polissacarídeos de origem microbiana. Além disso, também afirmam que os carboidratos possivelmente afetam a plasticidade dos solos, por aumentar a capacidade de retenção de água.

A biomassa microbiana é a parte viva da matéria orgânica, composta por fungos, bactérias, protozoários e algas (MOREIRA e MALAVOLTA, 2004). Além de armazenar nutrientes, pode servir como indicadora imediata de mudanças no solo, fornecendo informações sobre ciclagem da matéria orgânica. Pode atuar como dreno de nutrientes por meio da imobilização ou como fonte, por meio da mineralização. A cobertura vegetal influencia diretamente a biomassa microbiana, e por isso sua eliminação causa drástica queda da biomassa microbiana de carbono (Silveira et al., 2004). De acordo com Matsuoka et al. (2003), a biomassa microbiana é a fração da

matéria orgânica mais sensível à remoção da cobertura vegetal, pois na área com cobertura nativa há maior diversidade florística e ausência de revolvimento do solo, o que resulta em preservação de hifas, maior acúmulo de serrapilheira (resultando em uma menor variação de temperatura e umidade do solo), contribuindo com o aumento da biomassa de C nas áreas naturais em relação às áreas cultivadas. Isso foi constatado por Nogueira et al. (2006), que ao compararem áreas agrícolas, reflorestadas e nativas, encontraram valores significativamente maiores de biomassa microbiana nas áreas com cobertura nativa.

Dinesh et al. (2003) avaliaram a influência do uso do solo em florestas decíduas, semi-perenes e plantações comerciais de espécies arbóreas e encontraram níveis de biomassa microbiana de C sempre mais altos nas áreas florestais nativas do que nos reflorestamentos. Isso foi atribuído ao reduzido retorno de resíduos vegetais ao solo, somado à diminuição dos teores de matéria orgânica e conseqüente diminuição da atividade microbiana.

Rutigliano et al. (2004) avaliaram solos sob diferentes coberturas vegetais em diferentes estádios sucessionais, com e sem introdução de espécie exótica (*Pinus pinea*), e observaram que a introdução da espécie exótica diminuiu a biomassa e a atividade microbiana, o que foi atribuído à qualidade dos resíduos da planta, com alta relação C/N e alta concentração de lignina. Na comparação de duas áreas vegetadas, uma das quais com a espécie exótica, houve diferença significativa nas propriedades do solo suficiente para distanciá-las na análise multivariada. Além disso, as características biológicas e químicas do solo da área com pinus foi semelhante àquelas da área no início da sucessão, sugerindo um retardamento na recuperação da área pela introdução da espécie exótica.

A relação C/N da biomassa microbiana é resultado da divisão da biomassa microbiana de carbono pela biomassa microbiana de nitrogênio. Em solo sob diferentes manejos, Moreira e Malavolta (2004) verificaram que o aumento da relação C/N da biomassa microbiana e a menor mineralização da matéria orgânica do solo na

floresta primária, geralmente ocorrem pela alta quantidade de folhas, ramos e galhos. Estes resíduos vegetais apresentam alta relação C/N devido à sua composição, rica em lignina e celulose, tornando sua decomposição mais lenta. Chen et al. (2003) afirmam que cada grupo de microrganismos possui uma relação C/N diferente, isso graças às diferenças na composição de suas células. A parede celular dos fungos é composta de quitina, que é uma molécula rica em carbono, tornando a relação C/N mais alta. Por outro lado, bactérias possuem grande quantidade de proteínas em sua parede celular, moléculas ricas em nitrogênio, o que torna sua relação C/N mais baixa. Com isso, foram definidas as relações C/N 5:1 para bactérias, 6:1 para actinomicetos e 10:1 para fungos. Assim, a obtenção da relação C/N da biomassa microbiana permite inferir sobre a predominância de determinados grupos microbianos em solos sob diferentes formas de uso e manejo.

3.3. Grupos funcionais de microrganismos do solo.

Os microrganismos do solo podem ser classificados em grupos funcionais de acordo com os processos biológicos que realizam no ecossistema. Microrganismos envolvidos no ciclo do nitrogênio (diazotróficos, nitrificantes, desnitrificantes, amonificadores) e os envolvidos no ciclo do carbono (degradadores de polímeros de carbono), como a celulose (celulolíticos), degradadores de amido (amilolíticos), de proteínas (proteolíticos), etc. são exemplos de grupos funcionais (TORSVIK e ØVREÅS, 2002; ANDRADE, 2004). Os grupos funcionais de microrganismos do solo estão presentes em diversos ambientes e interagem diretamente com as raízes das plantas, participando de seu crescimento e nutrição (MATSUMOTO et al., 2005).

A grande diversidade de espécies em um grupo funcional pode ser interpretada como um mecanismo para assegurar a continuidade dos processos biológicos, onde a perda de uma espécie seria compensada pela presença de outras, que desempenhariam a mesma “função” no sistema (KENNEDY, 1999). Isso ocorre porque organismos funcionalmente semelhantes têm várias estratégias de sobrevivência,

adaptando-se às diferentes condições de crescimento e suportando as adversidades de diferentes ambientes, habitats e nichos (PERRY et al., 1989). Segundo esses autores, um solo que apresenta alta diversidade de organismos apresenta maior capacidade de manter os processos ecológicos em equilíbrio após um distúrbio. Essa capacidade é definida como resiliência e refere-se ao tamponamento biológico aos efeitos de perturbações no ecossistema, resultando em maior capacidade de recuperação do ecossistema após um distúrbio.

A relação entre a redundância funcional, que é o número de diferentes espécies dentro dos diferentes grupos funcionais, e a degradação do solo foi abordada por Harris (2003). Com base em estudos sobre a capacidade de utilização de diferentes fontes de C como substrato, observou-se que a redundância funcional bacteriana aumentava conforme o nível de recuperação do solo passava de degradado a não degradado. Isso foi relacionado com o restabelecimento e diversidade das espécies vegetais nas áreas, enfatizando a importância da diversidade vegetal sobre a diversidade funcional microbiana.

Brasil et al. (2006), estudando o efeito da bactéria *Bacillus thuringiensis* sobre os grupos funcionais de microrganismos amilolíticos e celulolíticos na rizosfera de sorgo, observaram que os celulolíticos sofreram inibição aos 20 dias de cultivo em relação ao controle sem a bactéria, enquanto que amilolíticos foram estimulados na avaliação após 109 dias. Matsumoto et al. (2005) avaliaram a interação de grupos funcionais na rizosfera de espécies arbóreas nativas representativas de diferentes estádios sucessionais (pioneiras, secundárias iniciais, secundárias tardias e clímax) e verificaram que enquanto os microrganismos amilolíticos não sofreram alterações nos diferentes grupos sucessionais, os celulolíticos apresentaram maior ocorrência na rizosfera de espécies secundárias iniciais. Isso indica que a composição da comunidade vegetal pode influenciar na prevalência ou supressão de determinados grupos funcionais de microrganismos no solo.

3.4. Atividade microbiana e coeficiente metabólico (qCO_2)

A respirometria ou respiração basal representa a taxa de mineralização do carbono orgânico, ou seja, a transformação do carbono existente no solo nas formas orgânicas para CO_2 por meio da ação microbiana. A respirometria apresenta grande potencial como indicador de qualidade do solo em áreas degradadas, relacionando-se com a perda de C orgânico do sistema solo-planta para a atmosfera, reciclagem de nutrientes, respondendo prontamente às diferentes estratégias de manejo do solo (SILVEIRA et al., 2004). Andersson et al. (2004) afirmam que a respirometria está relacionada com a biomassa microbiana de C e com o teor de matéria orgânica no solo, e em seu estudo correlacionaram maiores taxas de respiração com maiores atividades enzimáticas.

Assis Jr et al. (2003), em estudo realizado em MG em áreas sob sistema agroflorestal, monoculturas, área desmatada e mata natural, verificaram que as áreas sob mata e pastagem apresentaram maiores atividades biológicas medidas pelo desprendimento de CO_2 , fato atribuído à maior rizosfera encontrada no solo sob essas coberturas vegetais. Em avaliação de solo desmatado há 15 anos, a respiração microbiana em área desmatada foi significativamente menor que em área com vegetação nativa (BASTIDA et al., 2006).

O quociente metabólico (qCO_2) é um índice que expressa a quantidade de CO_2 produzida por unidade de biomassa microbiana por tempo, servindo como indicador do estado metabólico dos microrganismos do solo (ANDERSON e DOMSCH, 1993). Segundo esses autores, um alto valor de qCO_2 pode indicar um estado de estresse na comunidade microbiana do solo. Esse índice também é usado como um indicador do estado bioenergético da comunidade microbiana frente a alterações no ecossistema. Harris (2003) afirma que o qCO_2 tem sido freqüentemente utilizado na interpretação do grau de desenvolvimento e distúrbios causados aos ecossistemas.

Dinesh et al. (2003) encontraram maiores valores de qCO_2 em solos florestais em relação a solos agrícolas, o que foi atribuído à maior quantidade de substrato

orgânico que retorna ao solo florestal e é ativamente degradado pela comunidade microbiana, demonstrando uma maior demanda energética em comparação com as áreas cultivadas. Neste contexto, o quociente metabólico foi considerado como indicador da maturidade do ecossistema, sendo maior em comunidades microbianas de solos mais jovens, com a comunidade microbiana ainda não estável. Altos valores de qCO_2 podem indicar duas situações: uma em que há grande quantidade de substratos orgânicos de fácil degradação, e outra em que a comunidade microbiana se encontra em condição de estresse metabólico e apresenta baixa eficiência no processo de obtenção de energia para a manutenção celular, precisando respirar mais para manter a mesma unidade de biomassa (ANDERSON e DOMSCH, 1993). De acordo com Insam (1990), solos que recentemente receberam substratos orgânicos de fácil degradação apresentam predomínio de ecotipos microbianos estrategistas *r*, compreendendo poucas espécies, porém com altas taxas de crescimento. Esses microrganismos apresentam maior produção de CO_2 por unidade de biomassa que os denominados estrategistas *K*, que compreendem mais espécies, porém com menores taxas de crescimento, que acabam prevalecendo nos solos de ambientes estáveis.

De acordo com Harris (2003), o qCO_2 diminui com o estágio sucessional de vegetação de uma área, sendo maior nos estágios primários e decresce quando se tende à condição clímax. Porém nem sempre o qCO_2 segue esse modelo, e ao mesmo tempo em que fornece um índice de eficiência metabólica microbiana, também possui limitações em se tratando dos confusos efeitos causados por estresse e distúrbio na comunidade microbiana de solos degradados e em recuperação. Dessa maneira, sua interpretação deve ser cautelosa e integrada com os dados de biomassa microbiana de C, respirometria e também com análises de enzimas que refletem o estado metabólico dos microrganismos do solo como a desidrogenase. Outro fato que se deve ressaltar é que conforme avança o estágio sucessional, a deposição de carbono nas paredes celulares, em forma de celulose e lignina aumenta, sendo que as cascas

das árvores clímax são ricas em suberina, substância resistente à degradação microbiana.

3.5. Enzimas do solo

As enzimas do solo desempenham papel fundamental na ciclagem de nutrientes. Elas podem estar no solo em forma livre (exoenzimas produzidas e excretadas por microrganismos), ligadas às estruturas celulares ou mesmo endoenzimas, que foram liberadas no solo após a morte e ruptura da célula (BADIANE et al., 2001). Em se tratando de exoenzimas, elas são liberadas no solo com o intuito de aumentar a disponibilidade de nutrientes para os microrganismos. Estas enzimas podem permanecer na solução do solo ou se ligar a colóides ou substâncias húmicas, permanecendo ativas por anos (NADEAU et al., 2007).

As enzimas do solo ou exoenzimas têm origem principalmente microbiana, mas também podem ser provenientes de plantas e animais (WEAVER et al., 1994). Assim, quando a população e a dinâmica microbiana do solo são afetadas devido às práticas de manejo e uso do solo, também se espera que haja reflexos nas atividades enzimáticas (DENG e TABATABAI, 1997; NAYAK et al., 2007). São mediadoras de importantes processos bioquímicos como a mineralização e ciclagem de carbono e nutrientes, formação e decomposição da matéria orgânica do solo, além de degradação substâncias xenobióticas como os pesticidas. A atividade enzimática é sensível às mudanças no manejo dos solos e com isso podem antecipar mudanças na qualidade do solo (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2007) e também pode ser utilizada como índice de diversidade funcional microbiana (NAYAK et al., 2007). A atividade enzimática do solo, dentre outros fatores, também é influenciada pelo pH.

A desidrogenase é uma enzima intracelular responsável por reações de transferência de energia através da cadeia de transferência de elétrons (BASTIDA et al., 2006), refletindo assim a atividade oxidativa da biomassa microbiana. Por ser intracelular e permanecer ativa apenas em células viáveis (TRIPATHI et al., 2007),

serve como indicadora de atividade microbiana (LIZARAZO et al., 2005). É considerada como sensível indicadora de qualidade em solos degradados, além de ser proposta como biomarcador para indicar mudanças na atividade microbiana total causadas pelo manejo do solo (PASCUAL et al., 2000).

Pascual et al. (2000) avaliaram a atividade da desidrogenase em solos intensamente cultivados e que não mais são utilizados há diferentes períodos. As menores atividades de desidrogenase foram encontradas em solos abandonados há maior tempo, comparadas às encontradas em solos abandonados há menos de 10 anos. A diminuição da atividade da enzima com o passar do tempo de abandono do solo foi atribuída à sua maior degradação, decorrente da erosão propiciada pela falta de cobertura vegetal, incapaz de se restabelecer num solo intensamente degradado.

Lizarazo et al. (2005) observaram que a adição de húmus ao solo aumentou a atividade da desidrogenase, possivelmente pelo estímulo à comunidade microbiana. Por sua vez, Riffaldi et al. (2002) observaram diminuição na atividade da desidrogenase em solos cultivados intensamente, em comparação com área de pasto não degradado. Bastida et al. (2006) avaliaram a atividade microbiológica em solos desflorestados e constataram um efeito negativo na atividade da desidrogenase no solo cuja vegetação nativa tinha sido removida há 15 anos em relação ao solo que teve mantida a sua vegetação natural.

A amilase é uma enzima envolvida na liberação de açúcares de baixo peso molecular, que servem de fonte de energia para os microrganismos do solo (RIFFALDI et al., 2002). Em estudo utilizando a amilase como indicadora de qualidade do solo (BADIANE et al., 2001), observou-se correlação positiva da atividade enzimática com a biomassa de C e C total. As atividades foram maiores em áreas de pousio mais antigas, as quais apresentavam cobertura vegetal mais intensa e mais diversa. Enquanto nas áreas mais recentes, com menor atividade enzimática, havia o predomínio de gramíneas, nas mais antigas predominavam espécies arbóreas, com maior diversidade e aporte de resíduos orgânicos ao solo.

Celulases são enzimas extracelulares excretadas por microrganismos do solo, principalmente fungos (ANDERSSON et al., 2004). Respondem a várias condições ambientais, como temperatura, pH, qualidade da matéria orgânica e componentes minerais do solo (DOYLE et al., 2006). De acordo com Andersson et al. (2004), a atividade da celulase também pode ser alterada pela adição de nitrogênio ao solo. Doyle et al. (2006), em experimento utilizando duas fontes de celulose, verificou que a atividade enzimática variava tanto com a época do ano quanto com a qualidade da fonte de celulose. Isso indica que a atividade dessa enzima depende da qualidade do substrato sobre o qual atua. Dessa forma, diferentes coberturas vegetais, com resíduos qualitativamente distintos (e.g., relação C/N, teor de celulose, teor de lignina, presença de resinas, monoterpenos, taninos, etc.), podem influenciar distintamente na atividade de celulases no solo.

Andersson et al. (2004) avaliaram a atividade da celulase na serrapilheira, na camada húmica e na camada mineral de um solo sob floresta. A maior atividade enzimática foi encontrada na serrapilheira, que é onde há maior quantidade de celulose, apresentando correlação com o carbono da biomassa microbiana e respiração basal. Foi encontrada ainda uma correlação positiva entre a atividade da celulase e relação C/N do substrato.

Acosta-Martínez et al. (2007) encontraram menor atividade de enzimas relacionadas ao ciclo do carbono em área agrícola em relação à área de pasto. Já Nayak et al. (2007) encontraram alterações nos valores das enzimas desidrogenase e celulase em função de adubações em plantações de arroz, sendo as maiores atividades enzimáticas encontradas nos tratamentos adubados, possivelmente devido ao estímulo que a adubação pode causar à atividade microbiana.

Balota et al. (2004) encontraram diferenças nas atividades das enzimas celulase e amilase, influenciadas pelo manejo do solo (convencional e plantio direto), profundidade de amostragem e teor de matéria orgânica no solo. A atividade

enzimática foi mais alta na camada mais superficial do solo e apresentou correlações significativas com o teor de C total e a biomassa microbiana.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; CRUZ, L.; SOTOMAYOR-RAMÍREZ, D.; PÉREZ-ALEGRÍA, L. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. **Applied Soil Ecology**, v.35, p.35-45, 2007.

ADESODUN, J.K.; MBAGWU, J.S.C.; OTI, N. structural stability and carbohydrate contents of a ultisol under different management systems. **Soil Tillage and Research**, v.60, p.135-142, 2001.

ANDERSON, T.H. Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.98, p.285-293, 2003.

ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient form CO₂ (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.25, p.393-395, 1993.

ANDERSSON, M.; KJØLLER, A.; STRUWE, S. Microbial enzyme activities in leaf litter, humus and mineral soil layers of European forests. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, p.1527-1537, 2004.

ANDRADE G. Role of functional groups of microorganisms on the rhizosphere microcosm dynamics. In: VARMA A., ABBOTT L., WERNER, D.; HAMPP, R. (Eds.), **Plant Surface Microbiology**. Springer-Verlag, Berlin, p.51-69, 2004.

ASSIS JÚNIOR, S.L.; ZANUNCIO, J.C.; KASUYA, M.C.M.; COUTO, L.; MELIDO, R.C.N. Atividade microbiana do solo em sistemas agroflorestais, monoculturas, mata natural e área desmatada. **Revista Árvore**, v.27, p.35-41, 2003.

BADIANE, N.N.Y.; CHOTTE, J.L.; PATE, E.; MASSE, D.; ROULAND, C. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. **Applied Soil Ecology**, v.18, p.229-238, 2001.

BALL, B.C.; CHESHIRE, M.V.; ROBERTSON, E.A.G.; UNTER, E.A. Carbohydrate composition in relation to structural stability, compactability and plasticity of two soils in a long-term experiment. **Soil and Tillage Research**, v.39, p.143-160, 1996.

BALOTA, E.L.; KANASHIRO, M.; COLOZZI FILHO, A.; ANDRADE, D.S. ; DICK, R.P. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. **Braslian Journal of Microbiology**, v.35, p.300-306, 2004.

BASTIDA, F.; MORENO, J.L.; HERNÁNDEZ. T.; GARCÍA, C. Microbiological activity in a soil 15 years after its devegetation. **Soil Biology and Biochemistry**. v.38, p.2503-2507, 2006.

BRASIL, C.; MATSUMOTO, L.S.; NOGUEIRA, M.A.; SPAGO, F.R.; RAMPAZO, L.G.; CRUZ, M.F.; ANDRADE, G. effect of *Bacillus thuringiensis* on microbial functional

groups in sorghum rhizosphere. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.5, p.873-877, 2006.

CHEN, G.; ZHU, H.; ZHANG, Y. Soil activities and carbon and nitrogen fixation. **Research in Microbiology**, v.154, p.393-398, 2003.

DENG, S.P.; TABATABAI, M.A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III. Phosphatases and arylsulfatase. **Biology and Fertility of Soils**, v.24, p.141-146, 1997.

DINESH, R.; GHOSHAL CHAUDHURI, S.; GANESHAMURTHY, A.N.; CHANCHAL DEY. Changes in soil microbial indices and their relationships following deforestation and cultivation en wet tropical forests. **Applied Soil Ecology**, v.24, p.12-26, 2003.

DOYLE, J.; PAVEL, R.; BARNES, G.; STEINBERGER, Y. Cellulase dynamics in a desert soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.38, p.371-376, 2006.

HAN, W.; KEMMITT, S.J.; BROOKES, P.C. Soil microbial biomass and activity in Chinese tea gardens of varying stand age and productivity. **Soil Biology and Biochemistry**, v.39, p.1468-1478, 2007.

HARRIS, J.A. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. **European Journal of Soil Science**, v.54, p.801-808, 2003.

INSAM, H.. Are the soil microbial biomass and basal respiration governed by the climatic regime? **Soil Biology and Biochemistry**, v.22, p.525-532, 1990.

IZQUIERDO, I.; CARAVACA, F.Ç; ALGUACIL, M.M.; HERNÁNDEZ, G.; ROLDÁN, A. use of microbiological indicators for evaluating success in soil restoration after revegetation of a mining area under subtropical conditions. **Applied Soil Ecology**, v.30, p.3-10, 2005.

KENNEDY, A.C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.74, p.65-76, 1999.

LEMENIH, M.; KARLTUN, E.; OLSSON, M. Assessing soil chemical and physical property responses to deforestation and subsequent cultivation in smallholders farming system in Ethiopia. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.105, p.373-386, 2005.

LI, Q.; ALLEN, H.L.; II, A.G.W. Microbial biomass and bacterial functional diversity in forest soils: effects of organic matter removal, compaction, and vegetation control. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, p.571-579, 2004.

LIZARAZO, L.M.; JORDÁ, J.D.; JUAREZ, M. effect of humic amendments on inorganic N, dehydrogenase and alkaline phosphatase activities of a mediterranean soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.42, p.172-177, 2005.

MATSUMOTO, L.S.; MARTINES, A.M.; AVANZI, M.A.; ALBINO, U.B.; BRASIL, C.B.; SARIDAKIS, D.P.; RAMPAZO, L.G.L.; ZANGARO, W.; ANDRADE, G. Interactions among functional groups in the cycling of carbon, nitrogen and phosphorus in the rhizosphere of three successional species of tropical woody trees. **Applied Soil Ecology**, v.28, p.57-65, 2005.

MATSUOKA, M.; MENDES, I.C.; LOUREIRO, M.F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste, (MT). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.24, p.425-433, 2003.

MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. Dinâmica da matéria orgânica e da biomassa microbiana em solo submetido a diferentes sistemas de manejo na Amazônia Ocidental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.11, v.39, p.1103-1110, 2004.

NADEAU, J.A.; QUALLS, R.G.; NOWAK, R.S.; BLANK, R.R. The potential bioavailability of organic C, N, and P through enzyme hydrolysis in soils of the Mojave Desert. **Biogeochemistry**, v.82, p.305-320, 2007.

NAYAK, D.R.; BABU, Y.J.; ADHYA, T.K. Long-term application of compost influences microbial biomass and enzyme activities in a tropical Aeris Endoaquept planted to rice under flooded condition. **Soil Biology and Biochemistry**, v.39, p.1897-1906, 2007.

NOGUEIRA, M.A.; ALBINO, U.B.; BRANDÃO-JÚNIOR, O.; BRAUN, G.; CRUZ, M.F.; DIAS, B.A.; DUARTE, R.T.D.; GIOPPO, N.M.R.; MENNA, P.; ORLANDI, J.M.; RAIMAN, M.P.; RAMPAZO, L.G.L.; SANTOS, M.A.; SILVA, M.E.Z.; VIEIRA, F.P.; TOREZAN, J.M.D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, G. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brasil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. v. 115, p. 237-247, 2006.

PASCUAL, J.A.; GARCIA, G.; HERNANDEZ, T.; MORENO, J.L.; ROS, M. Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation process. **Soil Biology and Biochemistry**. v.32, p.1877-1883, 2000.

PERRY, D. A.; AMARANTHUS, M. P.; BORCHERS, J. G.; BORCHERS, S. L.; BRAINERD, R. E. Bootstrapping in ecosystems. **BioScience**, v.39, n.4, p.230-237, 1989.

RIFFALDI, R.; SAVIOZZI, A.; LEVI-MINZI, R.; CARDELLI, R. Biochemical properties of a Mediterranean soil as affected by long-term crop management systems. **Soil and Tillage Research**, v.67, p.109-114, 2002.

RUTIGLIANO, F.A.; D'ASCOLI, R.; VIRZO DE SANTO, A. Soil metabolism and nutrient status in Mediterranean area as affected by plant cover. **Soil Biology and Biochemistry**, v.34, p.1719-1729, 2004.

SAFARIK, I.; SANTRUCKOVÁ, H. Direct determination of total soil carbohydrate content. **Plant and Soil**, v.143, p.109-114, 1992.

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

SHARADA, S.P.; SAHU, S.K. CO₂ evolution and enzyme activities (dehydrogenase, protease and amylase) of fly ash amended soil in the presence and absence of earthworms (*Drawida willsi* Michaelsen) under laboratory conditions. **Geoderma**, v.118, p.289-301, 2004.

SILVEIRA, R.B.; MELLONI, R.; PEREIRA, E.G. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas, no sul de Minas Gerais. **Revista Acadêmica: ciências agrárias e ambientais**. v.2, n.2, p.21-29, 2004.

SPACCINI, R.; ZENA, A.; IGWE, C.A.; MBAGWU, J.S.C.; PICCOLO, A. Carbohydrates in water-stable aggregates and particle size fractions of forested and cultivated soils in two contrasting tropical ecosystems. **Biogeochemistry**, v.22, p.1-22, 2001.

TORSVIK, V.; ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes o ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v.5, p.240–245, 2002.

TRIPATHI, S.; CHAKRABORTY A.; CHAKRABARTI K.; BANDYOPADHYAY B. K. Enzyme activities and microbial biomass in coastal soils of India. **Soil Biology and Biochemistry**, v.39, p.2840-2848. 2007.

VELASQUEZ, E.; LAVELLE, P.; ANDRADE, M. GISQ, a multifunctional indicator of soil quality. **Soil Biology and Biochemistry**. v.39, p.3066-3080, 2007.

WEAVER, R.W.; AUGLE, S.; BOTTOMLY, P.J.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. Methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties. **Soil Science Society of America**, p.775-833, 1994.

5. ARTIGO: PROPRIEDADES MICROBIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO CICLO DO CARBONO EM SOLO SOB DIFERENTES COBERTURAS VEGETAIS.

RESUMO

Atividades microbiológicas e bioquímicas do solo podem ser ferramentas úteis como indicadores de qualidade do solo, permitindo avaliar se uma determinada forma de manejo tende a ser sustentável. Nesse estudo foram avaliados alguns bioindicadores da qualidade do solo relacionados ao ciclo do carbono em áreas com: floresta nativa ombrófila mista (NAT), reflorestamento com *Araucaria angustifolia* (AR), reflorestamento com *Pinus taeda* (PI), e uso agrícola com culturas anuais (AGR). Os diferentes manejos e coberturas vegetais do solo alteraram as características bioquímicas e microbiológicas relacionadas ao ciclo do carbono no solo. Houve maior ocorrência de microrganismos cultiváveis (fungos, bactérias heterotróficas, e os grupos funcionais celulolíticos e amilolíticos) em AGR, apesar de menor biomassa microbiana de C e desprendimento de CO₂, sugerindo que neste ambiente há uma seleção destes grupos microbianos em decorrência da menor diversidade e da menor competição microbiana esperada para esse ambiente. O teor de carbono total foi maior em NAT, assim como a biomassa microbiana de C e o desprendimento de CO₂, o que mostra a influência da matéria orgânica na comunidade microbiana. O qCO₂ não apresentou diferenças significativas entre as áreas, porém houve uma tendência a ser maior em AGR. Celulase e amilase demonstraram tendência contrária à dos grupos funcionais, com maior atividade nas áreas florestais, principalmente PI. A análise de componentes principais (ACP) indicou maiores semelhanças entre NAT e AR, enquanto AGR se diferenciou das áreas sob floresta. Os resultados indicam que o reflorestamento com espécie nativa tende a tornar os atributos relacionados ao ciclo do C mais semelhantes aos da área nativa do que os de um reflorestamento com espécie exótica.

Palavras-chave: qualidade de solo, bioindicadores, floresta nativa, reflorestamento, *Araucaria angustifolia*, *Pinus taeda*.

5.1. INTRODUÇÃO

A degradação do ambiente, alterações climáticas, exaustão de solos e declínio de florestas têm atraído a atenção dos pesquisadores na avaliação do impacto causado pela ação antrópica. O solo, base dos ecossistemas terrestres, é um ambiente complexo onde habitam diversos organismos atuantes nos ciclos biogeoquímicos. A saúde do solo e a capacidade de suportar a vegetação, natural ou implantada, de forma sustentável dependem da eficiente ciclagem do carbono e dos nutrientes nesses ambientes. O manejo agrícola inadequado assim como a introdução de espécies exóticas pode causar alterações nas características físicas, químicas, biológicas, microbiológicas, bioquímicas e morfológicas do solo (PASCUAL et al., 2000; DINESH et al., 2003; IZQUIERDO et al., 2005; SINSABAUGH et al., 2005; BASTIDA et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2006; VELASQUEZ et al., 2007). Estas alterações nas propriedades do solo podem afetar tanto as plantas quanto os organismos que nele vivem e desempenham importantes funções. Dependendo da intensidade de alteração pode haver o comprometimento da sustentabilidade do ambiente em questão, o que faz dos indicadores de qualidade do solo uma importante ferramenta para predizer se uma forma de manejo ou uso do solo tende à sustentabilidade ou à degradação.

A identificação de manejos do solo menos agressivos é importante principalmente nas áreas tropicais, onde o desmatamento e a degradação do solo ocorrem de forma acelerada (SPACCINI et al., 2001). Mesmo após o reflorestamento, a recuperação da funcionalidade original do solo é lenta, principalmente quanto aos processos que dependem da ação da comunidade microbiana.

O seqüestro de carbono e sua dinâmica têm recebido especial atenção por causa das mudanças no clima e formas de uso do solo (ANDERSSON et al., 2004). O carbono orgânico, proveniente principalmente dos resíduos vegetais e de exsudatos das raízes finas, é a principal fonte de energia para os microrganismos do solo, além de ter importantes efeitos nas propriedades físicas e químicas do solo. Em vários estudos (PASCUAL et al., 2000; SPACCINI et al., 2001; NOGUEIRA et al., 2006) o cultivo reduziu o teor de carbono total do solo em relação às áreas com vegetação natural. Os carboidratos solúveis, que agem como agentes estabilizantes temporários dos agregados do solo e compreendem 5 a 25% do carbono total do solo (SPACCINI et al., 2001), também sofrem declínio com o cultivo do solo.

A biomassa microbiana de carbono (BMC) é um rápido e sensível indicador de mudanças no solo, sendo amplamente utilizada como bioindicador de qualidade do solo (DINESH et al., 2003; BASTIDA et al., 2006; VELASQUEZ et al., 2007) e possui relação positiva com o carbono total do solo. Outros bioindicadores baseados no metabolismo microbiano também têm se mostrado úteis na avaliação dos efeitos do uso e manejo do solo. A respirometria avalia a taxa de mineralização do C orgânico pela ação microbiana, relacionando-se com a perda de C orgânico do solo (SILVEIRA et al., 2004). A desidrogenase atua na cadeia de transferência de elétrons e é ativa apenas em células viáveis (BASTIDA et al., 2006), podendo ser usada como indicadora da atividade microbiana no solo. O coeficiente metabólico (qCO_2) representa a quantidade de CO_2 liberado por unidade de biomassa microbiana de C em um determinado período. Um alto valor de qCO_2 pode indicar grande demanda energética para a manutenção da sobrevivência dos microrganismos, resultante de uma ineficiência metabólica em condições de estresse microbiano (ANDERSON e DOMSCH, 1993).

As enzimas amilase e celulase, que degradam respectivamente o amido e a celulose, são exoenzimas produzidas pelos microrganismos do solo, principalmente fungos (ANDERSSON et al., 2004). Sofrem alterações com variações de pH (NAYAK

et al., 2007), composição da comunidade microbiana (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2007) e tipo de substrato (DOYLE et al., 2006). Além de serem usadas como indicadores de qualidade do solo, podem representar a diversidade funcional microbiana (NAYAK et al., 2007).

A argila dispersa em água serve como indicador físico de qualidade do solo, visto que reflete o estado de agregação das partículas do solo. Solos com maior porcentagem de argila dispersa possuem menor estabilidade dos agregados, o que o torna mais sensível a processos erosivos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar alguns indicadores de qualidade do solo relacionados ao ciclo do carbono em solo sob uso agrícola, reflorestado com espécie exótica (*Pinus taeda*), reflorestado com espécie nativa (*Araucaria angustifolia*) em comparação ao solo sob floresta ombrófila mista nativa, na Floresta Nacional de Irati, Irati-PR, Brasil.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

A amostragem foi realizada em setembro de 2006, em áreas sob diferentes coberturas vegetais e uso do solo na Floresta Nacional de Irati – PR (25°24'34.30"S, 50°35'36.40"W) em solo classificado como Latossolo Vermelho Distrófico (EMBRAPA, 2006). Áreas representativas de quatro formas de uso do solo foram avaliadas: floresta nativa (Floresta Ombrófila Mista) (NAT); Reflorestamento com Araucária (*Araucaria angustifolia*) há 60 anos (AR); Reflorestamento com Pinus (*Pinus taeda*) há 50 anos (PI); e cultivo agrícola com culturas anuais (AGR) (Figura 1). De cada forma de uso do solo foram obtidas 8 amostras compostas, sendo metade realizada na porção leste e metade na porção oeste da Floresta Nacional, que compreende uma área total de 3.618,21 ha. As amostras compostas foram obtidas em transectos de 25 x 5 m delimitados aleatoriamente nas áreas representativas. Ao longo de cada transecto, foram coletadas aleatoriamente 15 amostras simples (0-10 cm) que foram

homogeneizadas e peneiradas (2 mm) formando uma amostra composta. Para as análises microbiológicas e bioquímicas, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas a 5°C até o momento da análise, enquanto que as análises químicas foram realizadas em amostras de solo secas ao ar.

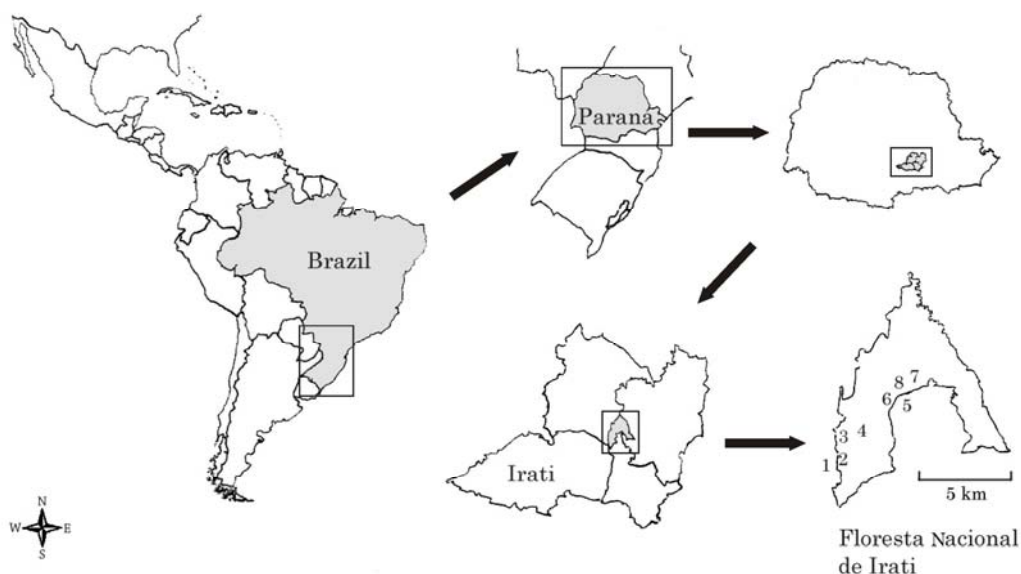


Figura 1. Localização da Floresta Nacional de Irati e dos locais de amostragem: Floresta nativa (4 e 8); Reflorestamento com araucária (2 e 6); Reflorestamento com pinus (3 e 7); uso agrícola (1 e 5).

Para análise dos carboidratos solúveis em água quente as amostras de solo foram submetidas à extração com água a 80°C na proporção de 1:5 por 16 h. Na seqüência, o extrato foi centrifugado (5800 g por 10 min) e o sobrenadante filtrado em membrana de nitrocelulose (0,45 µm). Os carboidratos solúveis no filtrado foram hidrolisados em H₂SO₄ 12 M a 100°C por 35 min na presença de timol 1% (3-hidroxi-4-isopropil tolueno). Após resfriamento, a absorvância foi lida a 490 nm (BALL et al., 1996).

O carbono total foi avaliado na amostra de solo seca ao ar pela oxidação do C orgânico pelo K₂Cr₂O₇ em meio ácido, seguido de titulação com FeSO₄ (YEOMANS e

BREMNER, 1988). O pH foi determinado em 10 g de amostra seca ao ar agitados em 25 mL de CaCl_2 0,01M por 15 min, após 30 min de descanso da suspensão.

A argila dispersa em água foi determinada em 20 g solo seco em estufa. Após sucessivas agitações em água destilada e repouso, 10 mL da suspensão foram transferidos para placa tarada e secos em estufa por 24 horas a 105°C . Com base na massa de argila presente na suspensão e nas diluições de solo, fez-se a estimativa do teor de argila dispersa (EMBRAPA, 1997).

A estimativa do número de bactérias heterotróficas e fungos cultiváveis foi feita por número mais provável (NMP) em diluições seriais realizadas em solução salina (NaCl 0,85%) estéril e inoculações em meio de cultura específico para cada microrganismo pelo método de gotas (JAHNEL et al., 1999). Para quantificação de microrganismos amilolíticos e celulolíticos foi realizada diluição em série das amostras em solução salina estéril e plaqueamento. Da diluição 10^{-4} foram plaqueados 50 μL , em duplicata, em meios de cultura para microrganismos amilolíticos (PONTECORVO et al., 1953) e celulolíticos (WOOD, 1980). As placas foram incubadas por 4 dias a 28°C no escuro e as colônias degradadoras de amido e celulose foram reveladas pela adição de solução de lugol e vermelho congo aos respectivos meios de cultura. Foram consideradas positivas as colônias que apresentaram halo de degradação (ANDRADE, 2004).

Para a análise de respirometria, utilizada para avaliação de atividade microbiana no solo, incubaram-se 100 g de cada amostra em frascos hermeticamente fechados contendo 20 mL de NaOH 0,25 N em béquer para captura o CO_2 liberado. A quantificação do CO_2 foi determinada pela titulação do NaOH remanescente com solução de HCl na presença de fenolftaleína, a cada dois dias, durante oito dias.

A biomassa microbiana de C (BMC) foi estimada pelo método de fumigação-extração (VANCE et al., 1987). Duas alíquotas de 25 g de solo foram pesadas e uma foi fumigada por 24 h a 25°C com clorofórmio. Após 24 h de fumigação, foi realizada a extração com K_2SO_4 0,5 M e filtragem. O carbono orgânico no extrato das duas

alíquotas de solo foi quantificado pela oxidação com $K_2Cr_2O_7$ e titulação do remanescente com sulfato ferroso amoniacal (ANDERSON & INGRAM, 1993). O C da biomassa foi calculado com base na diferença entre o C da amostra fumigada e o da amostra não fumigada, utilizando-se um fator $K_C = 0,33$. No mesmo extrato, o N da biomassa microbiana foi calculado utilizando-se um fator $K_N = 0,68$ (BROOKES et al., 1985). A relação C/N da biomassa microbiana foi determinada pela razão entre a biomassa de carbono e a biomassa de nitrogênio. O coeficiente metabólico (qCO_2) (ANDERSON & DOMSCH, 1993) foi calculado pela razão entre a respirometria e a biomassa microbiana.

As atividades das enzimas amilase e celulase foram avaliadas pela incubação de 5 g da amostra por 24 h em tampão fosfato pH 5,5 na presença de tolueno e do substrato de cada enzima (amido e celulose, respectivamente) a 37°C e 50°C, respectivamente. Os açúcares redutores (AR) produzidos foram quantificados em espectrofotômetro pelo método do Azul da Prússia (SCHINNER & MERISI, 1990). A atividade foi calculada com o auxílio de uma reta-padrão com glicose e expressa em μg de glicose g^{-1} solo seco h^{-1} .

Para a avaliação da atividade da desidrogenase (CASIDA et al., 1964) foram utilizados 5 mL da solução 1% de cloreto de trifetil tetrazólio (TTC) como substrato. Após incubação de 5 g de solo a 37°C por 24 h, foi realizada a extração com metanol e a leitura colorimétrica realizada em espectrofotômetro a 485 nm. Com o auxílio de uma reta-padrão construída com trifetil tetrazólio formazana (TTF), a atividade enzimática foi calculada e expressa em μg de TTF g^{-1} de solo seco dia^{-1} .

O conjunto dos dados foi submetido à análise de variância (one-way ANOVA) e comparação de médias pelo teste Tukey a $p < 0,05$, considerando um delineamento em blocos casualizados (porção leste e oeste do parque). Empregou-se também a Análise das Correspondências Canônicas (CCA) utilizando os dados das análises de pH, carbono total, carboidratos solúveis e umidade de campo como variáveis explicativas.

A significância das variáveis explicativas foi verificada a $p < 0,05$ pelo teste de permutações de Monte Carlo no modo “forward selection”. Realizou-se também uma Análise de Componentes Principais (ACP) a fim de se observar as relações entre as variáveis explicativas significativas na CCA, as variáveis respostas (parâmetros microbiológicos e enzimáticos) e as áreas de amostragem. A análise multivariada foi feita pelo programa Canoco for Windows 4.5 (BRAAK & SMILAUER, 1998).

5.3. RESULTADOS

As variáveis químicas apresentaram variações entre as áreas, com tendências opostas, dependendo da variável (Tabela 1). As áreas sob floresta apresentaram pelo menos o dobro do teor de carboidratos solúveis em água quente encontrado no solo em AGR, com maior destaque para as áreas reflorestadas com AR e PI (Tabela 1). O carbono orgânico total também apresentou menores teores em AGR, com teores intermediários em PI e AR e o maior teor em NAT. O pH variou numa faixa de alta acidez. O menor valor foi encontrado na área sob PI, seguida pelas áreas NAT e AR, com valores um pouco mais elevados e a área AGR, a qual apresentou valor significativamente maior de pH. Houve mais umidade no solo das três áreas sob florestas, com os menores valores, cerca de metade, encontrado na área agrícola. O menor teor de argila dispersa em água foi encontrado na área NAT, menos de 1/3 do valor encontrado nas áreas reflorestadas com AR e PI e cerca de 1/4 daquele encontrado em AGR.

A estimativa do número de microrganismos com base em contagens em meios de cultura (bactérias heterotróficas, fungos, amilolíticos e celulolíticos) indicou maior ocorrência no solo agrícola (Tabela 2). As bactérias heterotróficas apresentaram menor ocorrência no solo NAT, enquanto o menor número de fungos foi encontrado no solo da área AR. Os amilolíticos apresentaram menor ocorrência em AR e PI, enquanto que os celulolíticos apresentaram menor ocorrência em PI.

Tabela 1. Carboidratos solúveis em água quente, carbono orgânico total, pH, umidade e Argila dispersa em água em solo sob floresta nativa (NAT), reflorestamento com Araucária (AR), reflorestamento com Pinus (PI) e cultivo agrícola de culturas anuais (AGR). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Variável	Área				Erro Padrão
	NAT	AR	PI	AGR	
Carboidratos solúveis (mg kg ⁻¹)	1142,30 b	1461,73 a	1307,52 ab	586,11 c	69,65
Carbono orgânico total (g kg ⁻¹)	49,97 a	42,61 b	40,28 b	31,32 c	1,39
pH (CaCl ₂ 0,01 M)	3,90 b	3,85 b	3,37c	4,64 a	0,10
Umidade (%)	41,86 a	41,10 a	44,87 a	24,32 b	1,44
Argila dispersa em água (g kg ⁻¹)	15,12 b	50,00 a	48,53 a	58,91 a	6,67

Tabela 2. Estimativa do número de microrganismos cultiváveis em solo sob floresta nativa (NAT), reflorestamento com Araucária (AR), reflorestamento com Pinus (PI) e cultivo agrícola de culturas anuais (AGR). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Variável	Área				Erro Padrão
	NAT	AR	PI	AGR	
Bactérias Heterotróficas (log NMP ^a g ⁻¹)	5,88 c	6,27 ab	6,09 bc	6,56 a	0,10
Fungos (log NMP g ⁻¹)	4,62 bc	4,41 c	4,95 ab	5,13 a	0,11
Amilolíticos (log UFC ^b g ⁻¹)	6,70 b	6,45 c	6,42 c	6,92 a	0,05
Celulolíticos (log UFC g ⁻¹)	5,58 ab	5,53 b	5,29 c	5,80 a	0,06

^a NMP = Número Mais Provável; ^b UFC = Unidades Formadoras de Colônia.

As maiores atividades respiratórias foram encontradas nos solos das áreas NAT e AR, enquanto que os menores valores ocorreram em AGR e PI (Tabela 3). A BMC teve maior valor em NAT, não diferindo significativamente de AR, decresceu na área sob Pi e apresentou o menor valor em AGR. A biomassa microbiana de nitrogênio, empregada no cálculo da relação C/N da biomassa microbiana, não será apresentada nesse trabalho, sendo reservada para discussão em outro artigo referente ao ciclo do nitrogênio. Sendo assim, o maior valor da relação C/N da biomassa microbiana foi encontrado na área AGR, não se diferenciando de PI,

enquanto que a menor relação foi encontrada em AR. O qCO_2 não diferiu pela ANOVA e apenas apresentou tendência de ter maior valor em AGR.

Tabela 3. Atividade, biomassa microbiana, relação C/N da biomassa microbiana e coeficiente metabólico (qCO_2) em solo sob floresta nativa (NAT), reflorestamento com Araucária (AR), reflorestamento com Pinus (PI) e cultivo agrícola de culturas anuais (AGR). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Variável	Área				Erro Padrão
	NAT	AR	PI	AGR	
Respirometria ($\mu g CO_2 g^{-1} dia^{-1}$)	126,83 a	114,78 a	82,02 b	59,12 b	6,40
Biomassa microbiana de C ($\mu g g^{-1}$)	1275,90 a	1089,02 ab	955,37 b	533,04 c	76,10
Relação C/N da biomassa	5,27 bc	4,83 c	6,60 ab	7,06 a	0,44
qCO_2 ($mg CO_2 g^{-1} CBM h^{-1}$)	4,17 a	4,36 a	3,64 a	4,87 a	0,39

Embora as atividades das enzimas amilase e celulase tivessem apresentado tendências semelhantes, a atividade da desidrogenase apresentou comportamento oposto (Tabela 4). As maiores atividades de amilase e celulase ocorreram na área de PI e NAT, seguidas por AR, tendo apresentado as menores atividades em AGR. Contrariamente, a maior atividade da desidrogenase ocorreu em AGR, enquanto que as três áreas sob floresta apresentaram menores atividades, sem diferenças entre si.

Tabela 4. Atividades enzimáticas em solo sob floresta nativa (NAT), reflorestamento com Araucária (AR), reflorestamento com Pinus (PI) e cultivo agrícola de culturas anuais (AGR). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Variável	Área				Erro Padrão
	NAT	AR	PI	AGR	
Amilase (μg glicose g^{-1})	878,53 a	671,39 b	957,45 a	393,09 c	43,70
Celulase (μg glicose g^{-1})	741,19 ab	541,49 b	903,69 a	135,48 c	55,80
Desidrogenase (μg TTF ^a $g^{-1} dia^{-1}$)	3,97 b	4,27 b	2,06 b	13,50 a	1,54

^a Trifenil Tetrazólio Formazana.

A análise canônica correspondente (CCA), por meio da opção “forward selection” e teste de Monte Carlo, indicou que a variável carboidratos solúveis em água quente não apresentou efeito significativo sobre as variáveis respostas. Com

base nos dados das variáveis explicativas significativas ($p < 0,01$) pelo teste de Monte Carlo (carbono orgânico total, umidade e pH), a análise canônica explicou 61% da variabilidade total dos dados (Figura 2). Dessa variação, 85% foram explicados no primeiro eixo canônico, enquanto que o segundo eixo explicou 11 % da variabilidade. Nota-se que as variáveis carbono orgânico total, umidade e pH foram as que mais influenciaram as atividades de celulase, amilase, biomassa microbiana de carbono e respirometria. Já os quatro grupos microbianos baseados em cultivo, mais a relação C/N da biomassa microbiana e qCO_2 , apresentaram maior relação entre si, com menor influência das variáveis explicativas. Já a atividade de desidrogenase e o teor de argila dispersa em água apresentaram relação inversa com as variáveis explicativas, considerando o primeiro eixo canônico. Considerando o segundo eixo canônico, a argila dispersa em água apresentou relação inversa com o carbono orgânico total.

A análise de componentes principais (PCA) indicou clara separação das áreas estudadas no plano fatorial com base nas variáveis analisadas (Figura 3). A área agrícola (AGR) se posicionou na porção positiva do eixo 1 da componente principal, enquanto que as áreas sob floresta (NAT, PI e AR) se posicionaram na porção negativa. Dentre as áreas sob floresta, NAT e AR apresentaram maiores semelhanças entre si, tendo sido separadas da área de PI pelo eixo 2 da componente principal.

As variáveis respostas que mais se correlacionaram com a área agrícola no eixo 1 da componente principal foram os microrganismos cultiváveis (bactérias, fungos, celulolíticos e amilolíticos), argila dispersa em água, atividade da desidrogenase, e, em menor intensidade, as variáveis relação C/N da biomassa microbiana e coeficiente metabólico. A variável explicativa pH também apresentou correlação positiva com AGR e com as variáveis respostas a ela associadas. Ainda considerando o eixo 1 da componente principal, as variáveis respostas celulase, amilase, biomassa microbiana de carbono e respirometria foram as que mais se correlacionaram com as áreas sob floresta, seja nativa ou reflorestada. Nesse caso, as variáveis explicativas carbono orgânico total e umidade foram as que apresentaram

maiores correlações com as áreas reforestadas e com as variáveis respostas a elas associadas.

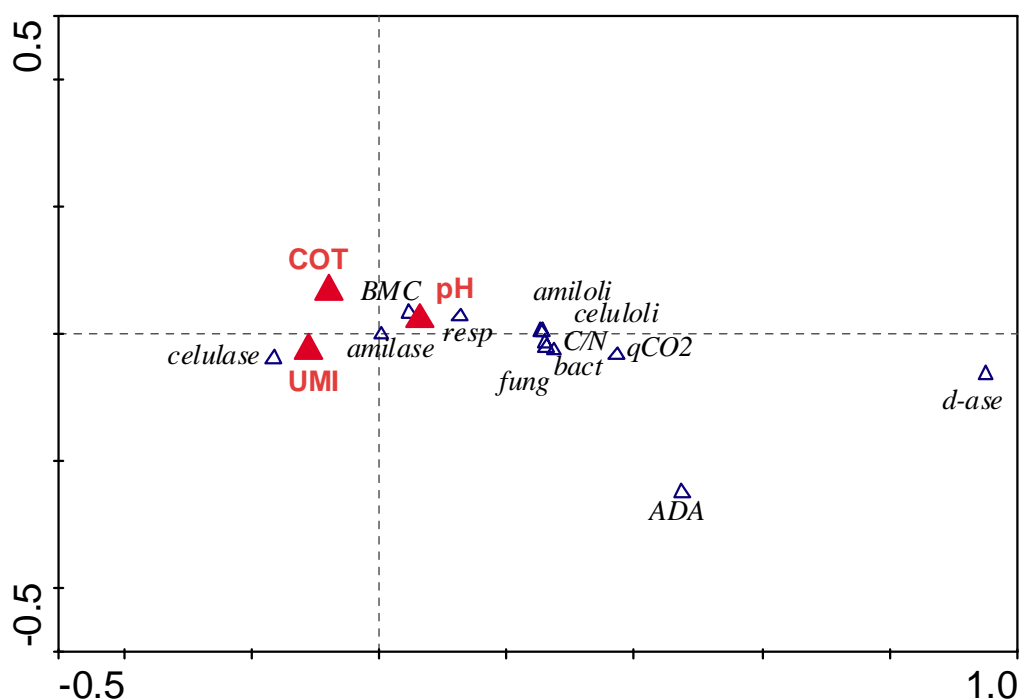


Figura 2. Análise Canônica Correspondente (CCA) baseada nas variáveis microbiológicas, bioquímicas e argila dispersa em água, representadas pelos triângulos vazios (*celulase*, *amilase*, *d-ase* = desidrogenase, *BMC* = biomassa microbiana de carbono, *resp* = respirometria, *amiloli* = microrganismos amilolíticos, *celuloli* = microrganismos celulolíticos, *fung* = fungos cultiváveis, *bact* = bactérias heterotróficas, *C/N* = relação C/N da biomassa microbiana, *qCO₂* = coeficiente metabólico, *ADA* = argila dispersa em água) e nas variáveis explicativas representadas pelos triângulos cheios (COT= Carbono orgânico total, UMI= Umidade de campo, e pH). Eixo 1 = 85%; Eixo 2 = 11%.

O segundo eixo da componente principal permitiu separar o reforestamento com pinus (PI) das demais áreas florestais. Nesse caso, as variáveis relação C/N da biomassa microbiana e fungos cultiváveis se correlacionaram positivamente com a área PI e negativamente com NAT e AR. Por sua vez, NAT e AR se correlacionaram positivamente com a variável respirometria e coeficiente metabólico, as quais se correlacionaram inversamente com a área sob PI.

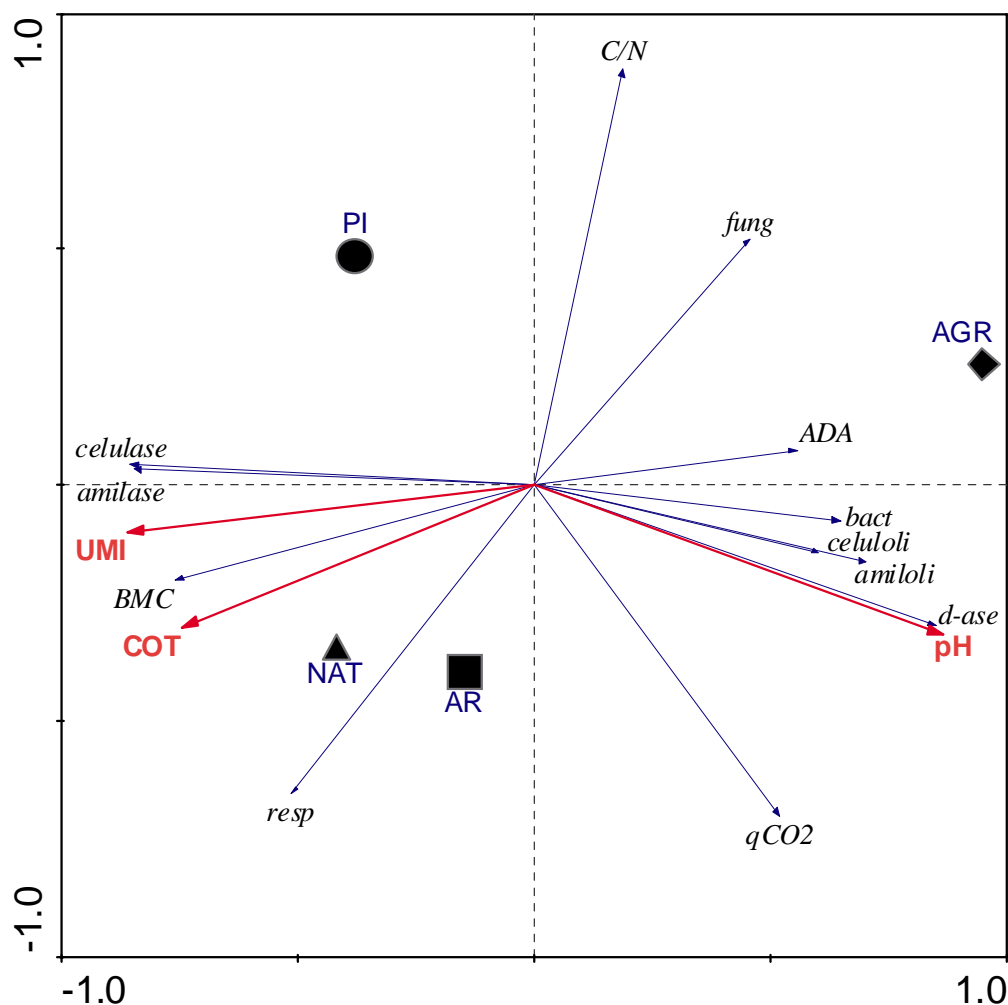


Figura 3. Plano fatorial da Análise dos Componentes Principais (PCA) baseada nas variáveis biológicas (*celulase*, *amilase*, *d-ase* = desidrogenase, *BMC* = biomassa microbiana de carbono, *resp* = respirometria, *amiloli* = microrganismos amilolíticos, *celuloli* = microrganismos celulolíticos, *fung* = fungos cultiváveis, *bact* = bactérias heterotróficas, *C/N* = relação C/N da biomassa microbiana, *qCO₂* = coeficiente metabólico) e argila dispersa em água (*ADA*), nas variáveis explicativas (*COT*= Carbono orgânico total, *UMI*= Umidade de campo, e *pH*) e nas áreas amostradas (*NAT* = floresta nativa; *AR* = reflorestamento com *A. angustifolia*; *PI* = reflorestamento com *Pinus taeda*; *AGR* = área agrícola). Eixo 1 = 69,0%; Eixo 2 = 13,6%.

Considerando as correlações entre as variáveis na ACP no eixo 1, nota-se que as atividades de celulase e amilase se correlacionaram negativamente com os microrganismos amilolíticos e celulolíticos. A argila dispersa em água se correlacionou negativamente com as atividades enzimáticas, com a biomassa microbiana de carbono e com a variável explicativa carbono orgânico total. No eixo 2, a respirometria e o coeficiente metabólico se correlacionaram entre si, mas apresentaram correlação inversa com a relação C/N da biomassa microbiana.

5.4 DISCUSSÃO

5.4.1. Análises não biológicas

Os carboidratos solúveis em água quente estão envolvidos na estabilização dos agregados do solo e são compostos principalmente por polissacarídeos de origem microbiana (BALL et al., 1996). Constituem a fração mais lábil do carbono orgânico do solo, mas podem ser protegidos da degradação microbiana no interior dos microagregados do solo (SPACCINI et al., 2001). Os menores teores de carboidratos solúveis em água quente na área AGR coincidiram com maiores teores de argila dispersa em água. Entretanto, mesmo com os maiores teores de carboidratos, os solos das áreas reflorestadas apresentaram teores de argila dispersa em água semelhantes aos da área agrícola. Isso indica que o reflorestamento com espécie exógena (PI) ou nativa (AR) há mais de meio século restabeleceu os níveis de carboidratos no solo a níveis iguais ou superiores ao encontrado na área de vegetação nativa, mas não promoveu a estabilidade de agregados na mesma proporção. Segundo Spaccini et al. (2001), o revolvimento do solo para o cultivo desestabiliza os agregados, expondo carboidratos e também a matéria orgânica à oxidação, o que leva a uma diminuição de seus teores no solo. Os maiores teores de carboidratos nas áreas florestais, cerca de duas vezes maior que em AGR, é provavelmente decorrente do maior retorno de material orgânico ao solo nessas áreas. Como os carboidratos representam 5 a 25 % do carbono orgânico do solo (SPACCINI et al., 2001), maiores teores de carbono orgânico total são acompanhados por maiores teores de carboidratos.

O carbono orgânico total teve o maior valor em NAT, que é o sistema considerado em equilíbrio, adotado como referência. Já a área agrícola é considerada o sistema mais desfavorável à manutenção da matéria orgânica por revolver o solo, expondo-o à ação do vento e da chuva, o que desestabiliza os agregados e causa

maior oxidação da matéria orgânica (SPACCINI et al., 2001). Além disso, a entrada de matéria orgânica em áreas agrícolas é menor em comparação a áreas de mata. A conversão das florestas em áreas agrícolas geralmente causa declínio no teor de matéria orgânica do solo (LEMENIH et al., 2005), e as dimensões deste declínio variam com a intensidade do cultivo, tipo de solo, clima e mineralogia. Izquierdo et al. (2005) encontraram nas áreas de reflorestamento um teor de matéria orgânica maior que nas áreas degradadas, resultante da maior cobertura vegetal nas primeiras. Entretanto, observaram também que as áreas de reflorestamento, mesmo após seis anos, ainda não tinham restabelecidos os teores de matéria orgânica aos níveis das áreas nativas. Essa observação também foi feita nesse trabalho, em que as áreas reflorestadas há mais de 50 anos não restabeleceram os níveis de carbono orgânico total do solo aos níveis do sistema referência (NAT). Dessa forma, observa-se que as frações mais lábeis da matéria orgânica, como os carboidratos solúveis são restabelecidos mais rapidamente, mas as frações mais estáveis ainda se encontram em níveis mais baixos, indicando que o distúrbio causado pela remoção da vegetação natural tem efeitos de longo prazo.

A umidade do solo foi maior nas áreas sob florestas, o que juntamente com o teor de carbono orgânico tem influências sobre a atividade microbiana (JENSEN et al., 2003). A cobertura do solo produzida pelas áreas sob floresta reduz consideravelmente a perda de água por evaporação, diferentemente da área agrícola, que apresenta menor cobertura do solo. A combinação entre cobertura do solo e conservação da umidade propicia uma maior biomassa de carbono e respirometria nos solos sob floresta em comparação ao solo da área sob cultivo agrícola.

5.4.2. Microrganismos cultiváveis

A ocorrência de microrganismos cultiváveis (bactérias, fungos, amilolíticos e celulolíticos) foi significativamente maior na área agrícola em relação às demais áreas, mesmo com a maior biomassa microbiana encontrada nas áreas florestais. Entretanto,

a maior contagem de microrganismos não necessariamente reflete em maior diversidade microbiana. A maior prevalência de microrganismos cultiváveis em AGR pode ter ocorrido pela seleção de grupos microbianos na área agrícola em relação às florestais, os quais acabam predominando nas contagens realizadas em meios de cultura artificiais, pelo fato de que a maior parte da diversidade microbiana não é apta a se desenvolver nessas condições (KANDELER, 2007). Dentre os fatores que afetam a comunidade microbiana do solo, o pH é um dos que apresentam maior interferência. Nota-se que o pH do solo das áreas variou numa faixa de alta acidez, principalmente nas áreas florestais, sobretudo a área com PI. Já a área AGR, embora num nível de acidez moderada, apresentou valores significativamente maiores de pH devido à calagem que o sistema AGR recebe. Isso pode ter contribuído para alterar a prevalência dos diferentes grupos microbianos em relação às demais áreas. Entretanto, possivelmente esse não é o único fator, sendo que outros fatores como o regime de umidade do solo, temperatura e entrada de resíduos orgânicos nas diferentes áreas, sobretudo substâncias químicas por meio dos fertilizantes e pesticidas usados nas culturas anuais do sistema AGR, podem ter interferido na prevalência dos microrganismos avaliados.

5.4.3. Biomassa e atividade microbianas

A área agrícola, seguida pela área com PI, apresentou a menor biomassa microbiana de carbono e atividade biológica medida pelo desprendimento de CO₂. De acordo com Nayak et al. (2007), a biomassa microbiana aumenta com o aumento do teor de C orgânico no solo, mas diminui em áreas agrícolas não adubadas devido ao inadequado suprimento de nutrientes, o que pode influenciar diretamente a comunidade microbiana ou indiretamente pela baixa rizodeposição de plantas mal nutridas, prejudicando os microrganismos rizosféricos. O menor aporte de resíduos orgânicos ao solo agrícola, bem como o manejo que recebe, com revolvimentos periódicos durante o preparo do solo, expondo-o ao ressecamento pelo sol e vento,

causaram a redução dessas variáveis microbiológicas. Resultados semelhantes foram encontrados após o desflorestamento e inclusão do solo ao manejo agrícola (DINESH et al., 2003; BASTIDA et al., 2006).

O reflorestamento com a espécie nativa (AR) resultou em respirometria e biomassa microbiana semelhante à área nativa. Entretanto, o reflorestamento com a espécie exótica (PI) causou reduções significativas dessas variáveis em relação à mata nativa. A qualidade do resíduo da cobertura vegetal que retorna ao solo tem grande influência na comunidade microbiana. No caso do pinus, os resíduos depositados no solo, além dos exsudatos liberados por suas raízes, possuem características diferentes das de espécies nativas como a araucária, sobretudo a maior relação C/N, o que dificulta a mineralização. Rutigliano et al. (2004) também observaram menor biomassa e atividade microbianas em área reflorestada com *Pinus pinea*. Esse efeito negativo à comunidade microbiana foi atribuído à alta relação C/N e alto teor de lignina no resíduo da planta, o que dificulta sua utilização como fonte de carbono e nutrientes. Em PI, deve ser levada em consideração a produção de substâncias alelopáticas, o que pode inibir alguns grupos microbianos, além da produção de resinas que podem dificultar a degradação da serrapilheira. Nogueira et al. (2006) verificaram que os indicadores microbiológicos em solo sob reflorestamento empregando espécies nativas se aproximaram aos da área de floresta nativa, enquanto que o reflorestamento com eucalipto, uma espécie exótica, apresentou indicadores similares aos das áreas agrícolas com culturas anuais.

A relação C/N da biomassa microbiana pode ser um indicativo da proporção entre microrganismos constituintes da biomassa microbiana. Diferentes grupos microbianos apresentam relações C/N características, sendo 5:1 para bactérias e 10:1 para fungos (CHEN et al., 2003). O maior valor de C/N da biomassa microbiana nas áreas AGR e PI sugere maior ocorrência de fungos do que nas áreas reflorestadas. Apesar das limitações dos métodos baseados em cultivos em meio de cultura, as

áreas AGR e PI foram as que apresentaram as maiores contagens de fungos, corroborando os resultados de relação C/N.

O coeficiente metabólico (qCO_2) não apresentou diferenças estatísticas entre as áreas, apresentando apenas uma tendência de ser maior na área agrícola, sugerindo menor eficiência metabólica naquele ambiente, o que pode indicar condição estressante à comunidade microbiana (ANDERSON & DOMSCH, 1993). Conforme Harris (2003) há uma diminuição do qCO_2 com o avanço dos estágios sucessionais da vegetação, enquanto que a degradação do solo aumenta o qCO_2 . Isso ocorre porque a biomassa microbiana é mais ativa nos estágios iniciais, predominando ecotipos que apresentam crescimento acelerado e, portanto, mais ativos metabolicamente, enquanto que em ecossistemas maduros há uma biomassa muito maior, mais diversa, porém menos ativa metabolicamente.

5.4.4. Atividades enzimáticas

As enzimas amilase e celulase apresentaram menores atividades em AGR e maiores em PI e NAT. De acordo com Andersson et al. (2004), a celulase apresentou maiores atividades em áreas onde o substrato possuía uma relação C/N mais alta, como é o caso da área com PI, devido à qualidade dos resíduos produzidos pela planta. Além disso, a maior oferta de substrato a ser degradado estimula a atividade microbiana, e conseqüentemente, a síntese de enzimas hidrolíticas, as quais são induzidas pelos microrganismos produtores na presença do substrato (NAYAK et al., 2007). Badiane et al. (2001), avaliando amilase e outras enzimas, encontrou diferenças na atividade enzimática em diferentes coberturas vegetais, sugerindo que a diferença na atividade enzimática tenha sido influenciada pela qualidade da matéria orgânica depositada no solo. A relação C/N da matéria orgânica do solo foi maior em PI (15,6:1), comparando com NAT (12,1:1) e AR (12,3:1), justificando a alta atividade da celulase. Entretanto, embora o sistema AGR tivesse apresentado alta C/N da matéria orgânica (14,5:1), apresentou a menor atividade enzimática. Nesse caso, a

atividade e biomassa microbianas, bem como o teor de carbono orgânico total, foram os mais baixos em relação às demais áreas. Assim, a atividade dessas enzimas não dependerá apenas da relação C/N da matéria orgânica, mas também de teores adequados de matéria orgânica no solo, que propiciarão maior atividade e biomassa microbiana. Sabe-se ainda que as celulases são induzidas pelo substrato e são produzidas principalmente por fungos. Zhang et al. (2006) atribuíram a maior atividade enzimática em áreas reflorestadas há mais tempo, comparadas com áreas no início da sucessão vegetal, a maiores quantidades de matéria orgânica excretadas na rizosfera, o que promove maior diversidade e densidade de microrganismos no solo.

A desidrogenase, ao contrário da celulase e amilase, é uma enzima intracelular que está presente em apenas células vivas, sendo uma indicadora da atividade metabólica dos microrganismos do solo, mais precisamente o fluxo de elétrons decorrente da respiração microbiana (BASTIDA et al., 2006). A atividade da desidrogenase em AGR foi pelo menos três vezes maior em relação às demais áreas. Na maioria dos casos, a maior atividade de desidrogenase está relacionada com incrementos nos teores de matéria orgânica e estímulo à atividade microbiana do solo (PASCUAL et al., 2000; BASTIDA et al., 2006; NAYAK et al., 2007). Entretanto, a área agrícola apresentou os menores teores de carbono orgânico total, biomassa microbiana de carbono e respirometria, contrariando os resultados encontrados anteriormente. A maior atividade de desidrogenase em AGR pode ser em decorrência do maior nível de estresse metabólico enfrentado pelos microrganismos daquele ambiente. Embora não significativo pela ANOVA, o quociente metabólico foi maior em AGR, corroborando a atividade da desidrogenase. Nessa condição, as células microbianas precisam respirar mais para manter sua biomassa. Com isso, o fluxo de elétrons é maior, o que resulta em maior atividade de desidrogenase e também mais CO_2 produzido por unidade de biomassa microbiana, aumentando o $q\text{CO}_2$. Sendo assim, a atividade da desidrogenase deve ser interpretada com cautela e de forma integrada com dados de biomassa microbiana, respirometria e $q\text{CO}_2$.

5.4.5. Análise integrada dos resultados

O emprego de técnicas de estatística multivariada permite fazer uma análise global das variáveis, suas interrelações e efeitos sobre as áreas estudadas. O emprego da análise canônica correspondente (CCA) permitiu identificar algumas variáveis, denominadas explicativas (ou ambientais) sobre as variáveis respostas. Nesse caso, o teste de Monte Carlo revelou que o carbono orgânico total, umidade do solo e pH apresentaram efeitos sobre as variáveis analisadas, enquanto que o efeito da variável carboidratos solúveis não foi significativo e portanto não foi usado nas análises multivariadas. O fato de o carbono orgânico total e a umidade do solo terem demonstrado proximidade entre si na análise canônica, resulta do fato que o carbono orgânico permite maior retenção de água pelo solo. Sendo assim, essas duas variáveis explicativas têm fortes influências nos processos biológicos do solo (JENSEN et al., 2003).

Os resultados indicaram que as três variáveis químicas apresentaram forte correlação com as atividades de celulase, amilase, BMC e respirometria. Esses resultados evidenciam a influência do carbono orgânico (DOYLE et al., 2006) e do pH (NAYAK et al., 2007) sobre enzimas relacionadas ao ciclo do C. Contrariamente, a atividade da desidrogenase apresentou relação oposta às variáveis explicativas. Isso ocorreu porque a atividade dessa enzima foi mais intensa na área agrícola, na qual as variáveis explicativas carbono orgânico e umidade foram menores. Apesar de os carboidratos solúveis não terem efeito significativo sobre as variáveis respostas, o carbono orgânico total apresentou alta significância pelo teste de Monte Carlo e se mostrou contrário à argila dispersa em água, o que enfatiza a importância do carbono orgânico total sobre a estabilidade de agregados do solo e não sua fração mais lábil, os carboidratos solúveis, ao contrário das afirmações de vários autores (BALL et al., 1996; SPACCINI et al., 2001).

A análise de componentes principais (PCA) mostrou clara separação entre as áreas avaliadas e a relação com as variáveis que mais influenciaram nessa separação. As áreas sob floresta apresentaram maiores semelhanças entre si, enquanto que a área agrícola foi a mais discrepante. Nesse caso, as áreas sob florestas apresentaram maior atividade de amilase e celulase, BMC e respirometria. Nessas áreas, a análise indica que as variáveis explicativas que mais influenciaram nas variáveis respostas foram o carbono orgânico total e a umidade do solo. Por outro lado, a área agrícola foi mais relacionada aos microrganismos cultiváveis, argila dispersa em água, atividade de desidrogenase, além da variável explicativa pH. A discrepância da área agrícola com relação às de mata provavelmente se deu pelas diferenças de manejo e cobertura vegetal. A cobertura da área agrícola é constantemente retirada, o solo é periodicamente revolvido e exposto às intempéries, favorecendo a oxidação da matéria orgânica estável, além de haver menor aporte de carbono que retorna ao solo em comparação às áreas de mata. A aplicação de insumos agrícolas como fertilizantes, calagem, pesticidas e herbicidas também pode influenciar a comunidade microbiana do solo. Moreira e Malavolta (2004) afirmam que a remoção da floresta para fins agrícolas altera os ciclos do carbono e dos nutrientes, que operam graças à entrada de carbono pela fotossíntese e à decomposição acelerada e contínua da matéria orgânica do solo, realizada pelos microrganismos.

Considerando o eixo 2 da componente principal, o reflorestamento com PI se mostrou discrepante em relação às outras duas áreas sob floresta (AR e NAT). Nesse caso, a variável C/N da biomassa microbiana esteve mais relacionada com a área de PI, enquanto que a respirometria foi mais relacionada com AR e NAT. Esse comportamento está relacionado diretamente com a qualidade do resíduo produzido pela vegetação. A produção de resíduos com maior C/N, lignina e resinas de difícil degradação contribui para alterar as propriedades microbiológicas do solo sob PI, assim como observado por Rutigliano et al. (2004). Por outro lado, a área reflorestada

com AR apresentou maior semelhança com a área nativa, enfatizando que a espécie exótica altera mais as propriedades do solo que o reflorestamento com espécie nativa.

Embora a contagem de microrganismos amilolíticos e celulolíticos se correlacionasse com área agrícola, estes apresentaram relações inversas às das atividades da amilase e celulase. Esse resultado contribui para enfatizar a limitação de técnicas baseadas em cultivos para inferir sobre a funcionalidade de processos microbianos em condições de campo (KANDELER, 2007), e ao mesmo tempo apresenta a atividade enzimática como indicador mais confiável de funcionalidade (NAYAK et al., 2007), como a ciclagem do C. Deve-se ressaltar que apenas parte da comunidade microbiana se desenvolve em meio de cultura artificial (KANDELER, 2007) e portanto a atividade de enzimas secretadas por fungos e bactérias (DOYLE et al., 2006), provavelmente reflita melhor a presença de microrganismos capazes de desempenhar funções importantes no solo.

5.5 CONCLUSÕES

Os diferentes manejos e coberturas vegetais do solo alteram suas características bioquímicas e microbiológicas relacionadas ao ciclo do carbono. O uso do solo para a agricultura diminuiu a quantidade de matéria orgânica, a umidade do solo, as atividades das enzimas celulase e amilase e a biomassa microbiana de C. Na área agrícola, as avaliações de qCO_2 e desidrogenase sugeriram condições estressantes à comunidade microbiana, ao passo que o reflorestamento com araucária proporcionou propriedades do solo semelhantes à área nativa. Algumas propriedades do solo são influenciadas pelo reflorestamento com Pinus, fazendo com que a área reflorestada com essa espécie diferencie em alguns aspectos da área sob floresta nativa, fato atribuível principalmente à diferente constituição dos resíduos produzidos pelas distintas espécies vegetais.

5.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; CRUZ, L.; SOTOMAYOR-RAMÍREZ, D.; PÉREZ-ALEGRÍA, L. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. **Applied Soil Ecology**, v.35, p. 35-45, 2007.

ANDERSON, T.H., DOMSCH, K.H.. The metabolic quotient form CO₂ (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.25, p.393-395, 1993.

ANDERSON, J.M., INGRAM, J.S.I. *Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods*. **CAB international, Wallingford**. 1993.

ANDERSSON, M.; KJØLLER, A.; STRUWE, S. Microbial enzyme activities in leaf litter, humus and mineral soil layers of European forests. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, p.1527-1537, 2004.

ANDRADE G. Role of functional groups of microorganisms on the rhizosphere microcosm dynamics. In: VARMA A., ABBOTT L., WERNER, D.; HAMPP, R. (Eds.), **Plant Surface Microbiology**. Springer-Verlag, Berlin, p.51-69, 2004.

BADIANE, N.N.Y.; CHOTTE, J.L.; PATE, E.; MASSE, D.; ROULAND, C. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. **Applied Soil Ecology**, v.18, p.229-238, 2001.

BALL, B.C., CHESHIRE, M.V., ROBERTSON, E.A.G., HUNTER, E.A. Carbohydrate composition in relation to structural stability, compactibility and plasticity of two soils in a long-term experiment. **Soil and Tillage Research**, v.39, p.1647-1653, 1996.

BASTIDA, F.; MORENO, J.L.; HERNÁNDEZ, T.; GARCÍA, C. Microbiological activity in a soil 15 years after its devegetation. **Soil Biology and Biochemistry**. v.38, p.2503-2507, 2006.

BRAAK, C.J.F.; SMILAUER, P. **CANOCO Reference Manual and User's Guide to Canoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination** (version 4). Microcomputer Power (Ithaca, NY, USA), 1998. 352 p.

BROOKES, P.C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D.S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.17, p.837-842, 1985.

CASIDA Jr., L.E., KLEIN, D.A., SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, v.98, p.371-376, 1964.

CHEN, G.; ZHU, H.; ZHANG, Y. Soil activities and carbon and nitrogen fixation. **Research in Microbiology**, v.154, p.393-398, 2003.

DINESH, R.; GHOSHAL CHAUDHURI, S.; GANESHAMURTHY, A.N.; CHANCHAL DEY. Changes in soil microbial indices and their relationships following deforestation and cultivation en wet tropical forests. **Applied Soil Ecology**, v.24, p.12-26, 2003.

EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Levantamento e Classificação de Solos. 2006. 306 p.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Levantamento e Classificação de Solos. 1997. 212 p.

DOYLE, J.; PAVEL, R.; BARNES, G.; STEINBERGER, Y. Cellulase dynamics in a desert soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.38, p.371-376, 2006.

HARRIS, J.A. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. **European Journal of Soil Science**, v.54, p.801-808, 2003.

IZQUIERDO, I.; CARAVACA, F.Ç; ALGUACIL, M.M.; HERNÁNDEZ, G.; ROLDÁN, A. use of microbiological indicators for evaluating success in soil restoration after revegetation of a mining area under subtropical conditions. **Applied Soil Ecology**, v.30, p.3-10, 2005.

JAHNEL, M.C.; CARDOSO, E.J.B.N.; DIAS, C.T.S. Determinação do número mais provável de microrganismos do solo pelo método de plaqueamento por gotas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p. 553-559, 1999.

JENSEN, K.D.; BEIER, C.; MICHELSEN, A.; EMMETT, B.A. Effects of experimental drought on microbial processes in two temperate heathlands at constrating water conditions. **Applied Soil Ecology**, v.24, p.165-476, 2003.

KANDELER, E. Physiological and biochemical methods for studying soil biota and their function. In: PAUL, E.A. **Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry**. 3 ed. Oxford: Elsevier, 2007. p. 53-83.

LEMENIH, M.; KARLTUN, E.; OLSSON, M. Assessing soil chemical and physical property responses to deforestation and subsequent cultivation in smallholders farming system in Ethiopia. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.105, p.373-386, 2005.

MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. Dinâmica da matéria orgânica e da biomassa microbiana em solo submetido a diferentes sistemas de manejo na Amazônia Ocidental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.1103-1110, 2004.

NAYAK, D.R.; BABU, Y.J.; ADHYA, T.K. Long-term application of compost influences microbial biomass and enzyme activities in a tropical Aerobic Endoaquept planted to rice under flooded condition. **Soil Biology and Biochemistry**, v.39, p.1897-1906, 2007.

NOGUEIRA, M.A.; ALBINO, U.B.; BRANDÃO-JÚNIOR, O.; BRAUN, G.; CRUZ, M.F.; DIAS, B.A.; DUARTE, R.T.D.; GIOPPO, N.M.R.; MENNA, P.; ORLANDI, J.M.; RAIMAN, M.P.; RAMPAZO, L.G.L.; SANTOS, M.A.; SILVA, M.E.Z.; VIEIRA, F.P.; TOREZAN, J.M.D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, G.. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. v. 115, p. 237-247, 2006.

PASCUAL, J.A.; GARCIA, G.; HERNANDEZ, T.; MORENO, J.L.; ROS, M. Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation process. **Soil Biology and Biochemistry**. v.32, p.1877-1883, 2000.

PONTECORVO, G.; ROPER, J.A.; HEMONS, L.M.; MACDONALDS, K.D.; BUFFON, A.W.J. The genetic of *Aspergillus nidulans*. **Advances in Genetics**, v.5, p.141-238, 1953.

RUTIGLIANO, F.A.; D'ASCOLI, R.; VIRZO DE SANTO, A. Soil metabolism and nutrient status in Mediterranean area as affected by plant cover. **Soil Biology and Biochemistry**, v.34, p.1719-1729, 2004.

SCHINNER, F., von MERSI, W. Xylanase-, CM-cellulase and invertase activity in soil: an improved method. **Soil Biology and Biochemistry**, v.22, p. 511-515, 1990.

SILVEIRA, R.B.; MELONI, R.; PEREIRA, E.G. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas, no sul de Minas Gerais. **Revista Acadêmica: ciências agrárias e ambientais**. v.2, p. 21-29, 2004.

SINSABAUGH, R.L.; GALLO, M.E.; LAUBER, C.; WALDROP, M.P. ZAK, D.R. Extracellular enzyme activities and soil organic matter dynamics for northern hardwood forests receiving simulated nitrogen deposition. **Biogeochemistry**, v.75, p.201-215, 2005.

SPACCINI, R.; ZENA, A.; IGWE, C.A.; MBAGWU, J.S.C.; PICCOLO, A. Carbohydrates in water-stable aggregates and particle size fractions of forested and cultivated soils in two contrasting tropical ecosystems. **Biogeochemistry**, v.22, p.1-22, 2001.

VANCE, E.D., BROOKES, P.C., JENKINSON, D.S.. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.703-707, 1987.

VELASQUEZ, E.; LAVELLE, P.; ANDRADE, M. GISQ, a multifunctional indicator of soil quality. **Soil Biology and Biochemistry**. v.39, p.3066-3080, 2007.

WOOD, P.J. Specify in the interactions of direct dyes with polysaccharides. **Carbohydrates Research**, v.85, p.271-287, 1980.

ZHANG, C.; HUANG, L.; LUAN, T.; JIN, J. LAN, C. Structure and function of microbial communities during the early stages of revegetation of barren soils in the vicinity of a Pb/Zn smelter. **Geoderma**, v.136, p.555-565, 2006.