



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA**

LAURA PRISCILA TOLEDO BERNAL

**BIOINDICADORES DE QUALIDADE EM SOLO SOB
PLANTIO DIRETO E CONVENCIONAL, COM E SEM
ADUBAÇÃO VERDE DE INVERNO**

Londrina
2008

LAURA PRISCILA TOLEDO BERNAL

**BIOINDICADORES DE QUALIDADE EM SOLO SOB
PLANTIO DIRETO E CONVENCIONAL, COM E SEM
ADUBAÇÃO VERDE DE INVERNO**

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. Galdino Andrade Filho

Londrina
2008

LAURA PRISCILA TOLEDO BERNAL

**BIOINDICADORES DE QUALIDADE EM SOLO SOB
PLANTIO DIRETO E CONVENCIONAL, COM E SEM
ADUBAÇÃO VERDE DE INVERNO**

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

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Galdino Andrade Filho (orientador)
CCB/MIB/UEL

Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira
CCB/MIB/UEL

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

Prof. Dr. Martin Homechin (suplente)
CCA/UEL

Dra. Diva de Souza Andrade (suplente)
IAPAR/LONDRINA

Londrina, 30 de junho de 2008.

BERNAL, Laura P. T. **Bioindicadores de qualidade em solo sob plantio direto e convencional, com e sem adubação verde de inverno.** 2008. 49f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

RESUMO

Os bioindicadores de qualidade de solo, principalmente os relacionados aos ciclos do carbono (C) e nitrogênio (N) são úteis para avaliar o efeito do manejo do solo e da rotação de culturas sobre a dinâmica do C e do N no solo. O objetivo desse trabalho foi avaliar as alterações que ocorrem em indicadores biológicos, físicos, químicos e bioquímicos de qualidade, em solo sob plantio direto ou convencional, com ou sem adubação verde de inverno. O estudo foi realizado na Fazenda-escola da Universidade Estadual de Londrina/PR em área há 5 anos sob plantio direto ou convencional, em combinação a realização ou não de adubação verde de inverno com aveia preta (*Avena sativa*) e cultivado com milho (*Zea mays*) no verão, em um Nitossolo Vermelho eutroférico. As amostras de solo (0-10 cm) foram obtidas em novembro/2007, antes da instalação da cultura de verão. Foram avaliadas variáveis como respirometria, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, relação C/N da biomassa, qCO_2 , carbono e nitrogênio totais, razão C_{mic}/C_{org} e N_{mic}/N_{org} , taxa de amonificação e nitrificação, pH, argila dispersa em água, fósforo disponível, desidrogenase, celulase, glutaminase e fosfatase ácida. Com relação às variáveis do ciclo do C, a maioria dos resultados obtidos não foi influenciada pelos tratamentos. Entretanto, houve efeito significativo sobre a maioria das variáveis relacionadas ao ciclo do N, indicando maior sensibilidade dessa variável ao manejo do solo. A área sob plantio direto com adubação verde apresentou maior biomassa microbiana de nitrogênio, o que esteve relacionado com o teor de nitrogênio total e a razão N_{mic}/N_{org} . O qCO_2 não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, porém houve uma tendência em ser menor na área de plantio direto e com adubação verde de inverno. Desidrogenase e celulase mostraram tendência contrária às variáveis do nitrogênio, com maior atividade na área sob plantio convencional sem aveia e plantio convencional com aveia, respectivamente. Entretanto, a glutaminase apresentou alta atividade, relacionando-se com as variáveis do ciclo do N, no tratamento sob plantio direto com presença de adubação verde, diferente da fosfatase ácida, que se apresentou com uma atividade reduzida no sistema de plantio convencional sem adubação verde de inverno. As variáveis relacionadas ao ciclo do N apresentaram maior dinâmica em função dos tratamentos, elegendo-as como sensíveis indicadores para avaliar efeito do manejo e cobertura vegetal do solo.

Palavras-chave: Bioindicadores. Qualidade de solo. Manejo de solo. Enzimas do solo. Biomassa microbiana.

BERNAL, Laura P. T. **Bioindicators of soil quality in soil under no-tillage or conventional planting systems, with or without winter green manures.** 2008. 49p. Dissertation (Master Degree in Microbiology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

ABSTRACT

Bioindicators of soil quality, especially those related to the carbon (C) and nitrogen (N) cycles, are useful for evaluating the effects of soil and crop rotation management on C and N dynamics in soil. The objective of this work was to evaluate alterations in biological, physical, chemical and biochemical indicators of quality, in soil under no-tillage or conventional planting systems, with or without winter green manures. The study was carried out at the Universidade Estadual de Londrina experimental farm in Londrina/PR, in soil under no-tillage or conventional areas for 5 years, in combination both with and without winter green manuring with black oat (*Avena sativa*) and cropped with corn (*Zea mays*) in summer, in Eutroferric Red Nitosol. The soil samples (0-10 cm) were obtained in november/2007, before summer crop installation. Evaluations of variables such as respirometry, microbial biomass carbon and nitrogen, biomass C/N ratio, qCO_2 , total carbon, total nitrogen, C_{mic}/C_{org} and N_{mic}/N_{org} ratio, ammonification and nitrification rates, pH, water dispersible clay, available soil phosphorus, dehydrogenase, cellulase, glutaminase and acid phosphatase were performed. In relation to variables related to C cycle, most of the experimental results were not influenced by the treatments. However, there was significant effect on most of variables related to the N cycle, what indicates high sensitivity of this variable to soil management. No-tillage area with winter green manuring presented greater microbial nitrogen biomass, what was associated with total nitrogen and N_{mic}/N_{org} ratio. qCO_2 did not present significant difference among the treatments, but there was a trend to lower values in no-tillage with winter green manures area. Dehydrogenase and cellulase presented opposite trend to nitrogen variables, with higher activity in no-tillage area without oat and conventional area with oat, respectively. Glutaminase, however, presented high activity, what was associated with N cycle variables, in the treatment of no -tillage with winter green manures, unlike acid phosphatase, that presented low activity in conventional planting system without winter green manures. Variables related to the N cycle were more dynamic with the treatments and constitute indicators with high sensitivity to effects of soil management and vegetation coverage.

Keywords: Bioindicators. Soil quality. Soil management. Soil enzymes. Microbial biomass.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 OBJETIVOS	7
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
3.1 SISTEMAS DE MANEJO DE SOLO	8
3.2 SOLO, MATÉRIA ORGÂNICA E BIOMASSA MICROBIANA.....	11
3.3 MICRORGANISMOS DO SOLO	14
3.4 RESPIRAÇÃO BASAL E QUOCIENTE METABÓLITO (QCO ₂)	14
3.5 ENZIMOLOGIA	15
4 REFERÊNCIAS	17
5 ARTIGO: BIOINDICADORES DE QUALIDADE DE SOLO SOB PLANTIO DIRETO E CONVENCIONAL, COM E SEM ADUBAÇÃO VERDE DE INVERNO	23
5.1 INTRODUÇÃO.....	23
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
5.3 RESULTADOS.....	28
5.4 DISCUSSÃO	33
5.5 CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1 INTRODUÇÃO

O solo é um sistema dinâmico, onde microrganismos têm um importante papel na ciclagem de nutrientes e carbono, contribuindo para a manutenção da qualidade do solo. Fatores de natureza física, química e biológica interagem entre si, sendo estes sensíveis a interferências antrópicas no solo, uma vez que a atividade microbiana é fortemente dependente das condições de uso do solo, respondendo rapidamente quando ocorrem alterações no manejo.

O sistema de plantio direto consiste na semeadura realizada sobre a palha da cultura anterior, não havendo um revolvimento excessivo do solo. Isso contribui para a manutenção ou favorecimento dos componentes biológicos nesses ambientes, aumentando a fertilidade do solo e sua sustentabilidade.

O aumento do teor de matéria orgânica no sistema de plantio direto geralmente acompanha um aumento da estabilidade dos agregados do solo, aumentando a resistência à erosão, além de aumentar a aeração e a drenagem do solo. A palha na superfície também diminui as perdas de água por evaporação, a oscilação térmica, ressecamento e compactação do solo, ao contrário do que acontece no sistema de plantio convencional.

A avaliação de bioindicadores de qualidade do solo tem sido uma ferramenta cada vez mais utilizada para verificar a capacidade de auto-sustentabilidade dos ecossistemas. A avaliação de determinados grupos microbianos ou processos realizados por eles pode indicar como as transformações do carbono e nutrientes estão ocorrendo no solo.

A biomassa microbiana de carbono é um dos mais amplamente utilizados indicadores biológicos da qualidade do solo. Este é considerado o parâmetro mais sensível às mudanças iniciais no conteúdo de matéria orgânica do solo, podendo ser utilizado como indicativo de nível de degradação em função do sistema de manejo utilizado. Além disso, a taxa de respiração, coeficiente metabólico (qCO_2) e atividades enzimáticas também podem fornecer informações que permitem indicar as alterações decorrentes do uso do solo sobre a dinâmica do carbono e nutrientes.

2 OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho foi avaliar e comparar as alterações que ocorrem em alguns indicadores biológicos, físicos, químicos e bioquímicos de qualidade, em solo sob plantio direto ou convencional, com ou sem adubação verde de inverno, no município de Londrina/PR.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 SISTEMAS DE MANEJO DE SOLO

Os sistemas de manejo do solo, principalmente os chamados convencionais, utilizam uma intensa atividade de preparo do solo e o emprego excessivo de máquinas de grande porte, promovendo uma acentuada degradação do solo nos aspectos químicos, físicos e principalmente biológicos, com conseqüente desestruturação da camada superficial, aumentando a erosão hídrica (FRANCELLI; FAVARIN, 1989; HENKLAIN et al., 1996), processo manifestado pelo desprendimento e arraste acelerado das partículas do solo causado pelo movimento superficial da água. O escoamento superficial da enxurrada, proveniente das águas da chuva que não são absorvidas pelo solo, ou não se infiltram, transporta partículas em suspensão e nutrientes em solução (SHAXSON, 1987; RUFINO et al., 1996), diminuindo a fertilidade do solo e, conseqüentemente, a produtividade das culturas, resultando no abandono da área (FIGUEIREDO et al., 1996).

A tradicional prática do sistema do plantio convencional, em que o solo é constantemente revolvido, expõe diretamente os organismos do solo à luz e o calor do sol ou então, enterrando-os em profundidades maiores que as de seu habitat natural. Ainda durante o tempo da entressafra, o solo é arado e gradeado ficando nu e desprotegido. Neste caso, não apenas a comunidade microbiana, mas também a denominada macrofauna, sofrem severos danos (SANTOS, 1996).

Os sistemas de manejo do solo que contribuem para aumentar a agregação das partículas são necessários (BEARE et al., 1995), no sentido de aumentar os índices de infiltração de água, aumentando a aeração e conseqüentemente promovendo uma conservação do potencial produtivo do solo (FERREIRA et al., 2007). Um dos maiores avanços no processo produtivo agrícola brasileiro foi a introdução do sistema de plantio direto, em que o objetivo básico inicial foi apenas controlar a erosão hídrica.

As primeiras pesquisas registradas sobre plantio direto no Brasil são relativamente recentes. Iniciaram-se em 1971, no Estado do Paraná, no Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuária Meridional do Ministério da Agricultura -

IPEAME/MA, na Estação Experimental de Londrina, distrito de Maravilha e no município de Ponta Grossa (DERPSCH, 2002).

Em 1972, os trabalhos realizados na Estação Experimental de Ponta Grossa/PR geraram a primeira publicação sobre plantio direto no Brasil. Neste mesmo ano, o agricultor Arnold Herbert Bartz, tornou-se pioneiro do sistema no Brasil e na América Latina, instalando uma parcela demonstrativa de plantio direto de trigo em sua fazenda no município de Rolândia/PR. Resultados de pesquisas realizadas em diferentes partes do mundo vêm subsidiando que o plantio direto é um sistema com muitas vantagens e raras desvantagens, quando comparadas com o sistema convencional (MATOS, 2006).

Este sistema de manejo do solo, definido com uma tecnologia eficiente para conservar o solo, diferencia-se dos outros processos de semeadura pela menor intensidade de mobilização do solo e pela redução da frequência do tráfego de máquinas sobre o terreno. Com o tempo, a tecnologia evoluiu para um sistema de produção sustentável com conseqüências econômicas, sociais e ambientais positivas (DERPSCH, 2002).

O plantio direto é um processo de semeadura em solo não revolvido, no qual a semente é colocada em sulcos ou covas (MUZZILI, 1985). Caracteriza-se pela semeadura realizada diretamente sobre os restos vegetais do cultivo anterior, sem nenhum preparo prévio do solo, ou seja, sem aração ou gradagem. A permanência dos resíduos vegetais na superfície do solo protege contra a erosão no período entre dois cultivos, sendo este o aspecto mais positivo do sistema, em médio e longo prazo (MATOS, 2006).

A cobertura também contribui para a manutenção de temperaturas mais amenas (FENG et al., 2003) e maior retenção de água no solo em períodos quentes e prolongados de estiagem, funcionando como agente isolante, impedindo oscilações térmicas bruscas e acentuadas, contribuindo para menor evaporação da água armazenada na camada arável, significando uma economia de 10 a 20% de água no solo (MUZZILI, 1985; ROSS, 1987).

A conseqüência da melhor conservação da umidade é a germinação e o crescimento inicial mais rápido e uniforme das sementes e plântulas, proporcionando uma economia de até 15% nos gastos com sementes, além da redução de riscos pela necessidade de replantio das lavouras. Após a emergência, a conservação da umidade no solo continua a favorecer o crescimento uniforme e

vigoroso das plantas, cujos efeitos se refletem diretamente no rendimento das lavouras, sobretudo no ano em que ocorrem estiagens e a desigual distribuição das chuvas (MUZZILI, 1985).

Quanto à fertilidade do solo, há um acúmulo de nutrientes e resíduos vegetais nas camadas superficiais (PAUSTIAN et al., 1997), diminuindo a necessidade da quantidade de adubo a ser aplicado, principalmente os fosfatados. Com maior teor de água na camada superficial há maior difusão de nutrientes até às raízes, reduzindo os custos de produção, sem diminuir a produtividade das lavouras (SÁ, 1993).

Destaca-se também o acúmulo de matéria orgânica, nitrogênio, cátions e maior disponibilidade de nutrientes na camada superficial do solo. Tanto os resíduos das culturas de interesse econômico, em rotação ou sucessão, como os das plantas de cobertura ao longo dos anos, acarretam um aumento gradual no teor de matéria orgânica, notadamente na camada de 0 a 10 cm, pois a taxa de decomposição da palha mantida na superfície é menor do que quando incorporada ao solo (MATOS, 2006; WRIGHT; HONS, 2004).

A elevação do teor de matéria orgânica está relacionada à ação dos microrganismos mineralizadores, relacionando também com a maior adição de fitomassa das culturas em rotação e/ou sucessão. Este aumento do teor ocorre geralmente após seis ou sete anos da adoção do novo sistema de manejo do solo (SÁ, 1993).

A partir de pesquisas em todo mundo, durante mais de sessenta anos, concluiu-se que este sistema é capaz de conseguir a tão desejada sustentabilidade agrícola em áreas extensivas. De uma maneira geral, o plantio direto tem sido reconhecido, por meios técnicos nacionais e internacionais, como a maior conquista do século nos campos de manejo do solo e da agricultura sustentável (MATOS, 2006).

Segundo a FAO (*Food and Agriculture Organization*), “O desenvolvimento sustentável conserva o solo, a água e recursos genéticos animais e vegetais, não degrada o meio ambiente, é tecnicamente apropriado, economicamente viável e socialmente aceitável” (ROMEIRO, 1997).

3.2 SOLO, MATÉRIA ORGÂNICA E BIOMASSA MICROBIANA

O solo é um recurso natural cujas funções no ambiente são fundamentais para a manutenção da vida, servindo de suporte mecânico aos vegetais, aos quais fornece água, oxigênio e energia. É denominado como sendo um corpo natural da superfície terrestre, constituído de materiais minerais e orgânicos resultantes das interações dos fatores de formação através do tempo, contendo matéria viva e em parte modificada pela ação humana, capaz de sustentar plantas, reter água, de armazenar e transportar resíduos e suportar edificações (MATOS, 2006).

O solo é composto por três fases: líquida, gasosa e sólida. A fase aquosa constitui a solução de solo (constituída de água, de minerais e de compostos orgânicos). É um sistema dinâmico e aberto, onde ocorrem inúmeras reações juntamente com as outras fases, sendo influenciados pelo teor de matéria orgânica, origem do solo, pH, adição de produtos químicos, dentre outros (MEURER, 2000).

A fase sólida é composta por partículas primárias (argila, silte e areia) e matéria orgânica que se aderem umas às outras, potencializando o armazenamento de água, nos poros dos agregados, diminuindo as perdas de partículas e nutrientes por processos erosivos, protegendo os microrganismos contra a predação e dessecação (MENDES et al., 2003; MATOS, 2006). A agregação das partículas do solo favorece na ciclagem da biomassa microbiana, pois as variações de temperatura e umidade são diminuídas ao longo do dia (ELLIOTT; COLEMAN, 1988).

Na fração argila destaca-se a troca iônica, processo denominado de capacidade de troca catiônica (RESENDE et al., 2002). Como a maioria dos solos se apresenta carregado negativamente, possui a capacidade de adsorver íons com cargas opostas: Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^{+} , H^{+} e outros, tornando o pH das superfícies carregadas menor que a solução do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). A análise do teor de argila dispersa em água serve como um indicativo do grau de agregação das partículas do solo e quanto o solo é susceptível a processos erosivos. O estudo da química, física e biologia do solo fornece informações que permitem caracterizar a qualidade do solo.

A maior parte da matéria orgânica do solo é gerada a partir da decomposição de resíduos de plantas e animais, sendo formada por diversos compostos de carbono. É a principal fonte de carbono e energia para os microrganismos e como consequência do processo de decomposição torna-se, fonte de nutrientes para os vegetais. É essencial para a qualidade e capacidade produtiva do solo, sendo seu processo de humificação diretamente dependente da atuação microbiana, afetado pelo clima, tipos de solo e sistemas de manejo.

Os microrganismos utilizam a fração disponível da matéria orgânica como fonte de C e energia, tornando-se sensíveis às alterações de sua qualidade (SANTOS et al., 2005). Em solo sob plantio direto, observa-se um aumento dos teores de matéria orgânica (BALOTA et al., 2003).

A biomassa microbiana está localizada no compartimento lábil da matéria orgânica do solo e é formada por fungos, bactérias, protozoários, algas e os organismos que compõem a mesofauna (FERNANDES et al., 1996; MOREIRA; MALAVOLTA, 2004). É constituída do material orgânico dos microrganismos vivos, contendo entre 1 a 4% do C total do solo (FERREIRA et al., 2007) e de 3 a 5% de N (SCHLOTTER et al., 2003). É responsável pelo controle das funções essenciais no solo, como decomposição e acúmulo de matéria orgânica ou transformações envolvendo nutrientes minerais ou compostos do solo. Está diretamente relacionada à quantidade de C orgânico presente no solo. Assim, o alto conteúdo de biomassa microbiana proporciona ao solo maior estocagem de nutrientes, melhorando a ciclagem ao longo dos anos (STENBERG, 1999; SCHLOTTER et al., 2003).

A mobilização do solo eleva a biomassa microbiana em curto prazo, por disponibilizar substrato orgânico com a quebra dos agregados do solo, mas em longo prazo, pode ter efeitos negativos, diminuindo os teores de matéria orgânica (RESCK, 1993). Henrot e Robertson (1994) mediram o C da biomassa microbiana em dois solos tropicais sob cultivo convencional e notaram o declínio de, após três anos de ensaio, 20% do C total e o C microbiano estabilizou-se a 35% do seu valor inicial.

Balota et al. (1998) notaram um aumento de até 129% de C e 49% de N da biomassa, na camada superficial (0 a 5 cm), quando utilizou plantio direto, comparando com diversos sistemas de cultivo. Portanto, a biomassa microbiana pode ser considerada um bom indicador de mudanças induzidas pelo sistema de manejo de solo. Por meio da biomassa microbiana, que é parte viva da matéria

orgânica do solo, pode-se avaliar as mudanças iniciais no conteúdo desta, servindo como indicadora imediata de mudanças no solo (SANTOS et al., 2005).

A maior parte do nitrogênio total do solo ocorre na forma orgânica, sendo sua disponibilidade regulada pela ação microbiana, através da mineralização da matéria orgânica. No solo, o N disponível às plantas é suprido pela mineralização, fixação biológica e adição de fertilizantes nitrogenados. Dentre os nutrientes, o N se destaca por ser exigido em maior quantidade pelas culturas, entretanto, este apresenta dinâmica complexa. O nitrogênio orgânico passa por transformações microbiológicas no solo (especialmente das formas NH_3 , NH_4^+ , NO_2^- e NO_3^-) e está sujeito a perdas por lixiviação, volatilização e desnitrificação. A sua deficiência causa a redução na síntese de clorofila, de aminoácidos essenciais e da energia necessária à produção de carboidratos e esqueletos carbônicos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

Para ser utilizado pelas plantas é necessário que passe pelo processo denominado mineralização, transformando o N orgânico em formas iônicas NH_4^+ (amônio) e NO_3^- (nitrato) (MATOS, 2006). O nitrogênio é um dos nutrientes mais influenciados pelo sistema de manejo de solo, e desta forma, o plantio direto, onde existem resíduos vegetais que estimulam a atividade biológica do solo, propicia aumento dos estoques de N no solo (LOPES et al., 2004).

O carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana, bem como a razão $C_{\text{microbiano}}/C_{\text{total}}$, $N_{\text{microbiano}}/N_{\text{total}}$ e $C_{\text{microbiano}}/N_{\text{microbiano}}$ são índices úteis para monitorar as transformações da matéria orgânica do solo (TÓTOLA; CHAER, 2002; LOPES et al., 2004).

A produção de espécies vegetais para cobertura do solo é uma importante prática no manejo de áreas agricultáveis e dentre as diversas características desejáveis para a seleção de espécies para esse fim, destacam-se a produção de fitomassa e a capacidade de acumular N. Juntamente com a relação C:N da biomassa de plantas, é possível conhecer a capacidade das culturas de cobertura em incrementar a oferta de N para as culturas comerciais.

3.3 MICRORGANISMOS DO SOLO

Os microrganismos do solo estão presentes tanto no solo rizosférico como no não-rizosférico, desempenhando funções no ecossistema, como decomposição de resíduos orgânicos, reciclagem de nutrientes, seqüestro e desintoxicação de substâncias tóxicas e outros (COSTANZA et al., 1997). Desta forma, as características microbiológicas podem ser usadas como indicadoras da qualidade do solo (DORAN; ZEISS, 2000).

3.4 RESPIRAÇÃO BASAL E QUOCIENTE METABÓLITO (qCO_2)

A respirometria ou respiração basal representa a taxa de mineralização do C orgânico, quantificando o CO_2 liberado. A maior biomassa microbiana geralmente encontra-se positivamente relacionada com a liberação de CO_2 (CATTELAN; VIDOR, 1990). Anderson et al. (2004) correlacionaram maiores taxas de respiração basal e biomassa microbiana com maior atividade enzimática da celulase de um solo sob floresta. Insam et al. (1996) sugeriram que a respiração basal está intimamente relacionada ao C da biomassa microbiana, mas com a adição de matéria orgânica não estabilizada, a liberação de CO_2 aumenta.

O quociente metabólico (qCO_2) é um índice que expressa a quantidade de CO_2 produzida por unidade de biomassa microbiana pelo tempo. Sua avaliação relacionando o CO_2 e biomassa microbiana possibilita estimar qual tratamento causa maior desequilíbrio na dinâmica dos microrganismos do solo (TÓTOLA; CHAER, 2002). Para Insam e Domsch (1988), a respiração basal por unidade de biomassa microbiana diminui em sistemas mais estáveis devido ao substrato facilmente disponível à comunidade microbiana. Balota et al. (1998) encontraram valores de qCO_2 no sistema de plantio direto 28% inferior ao sistema convencional.

Os valores de qCO_2 diminuem à medida que a biomassa microbiana se torna mais eficiente na utilização de recursos do ecossistema, menos CO_2 é perdido pela respiração e maior proporção de C é incorporada aos tecidos microbianos, resultando em aumento da biomassa microbiana (ANDERSON;

DOMSCH, 1993), considerando assim, os menores valores de qCO_2 indicam maior eficiência metabólica da biomassa microbiana.

O qCO_2 é utilizado na interpretação do grau de desenvolvimento e distúrbios causados aos ecossistemas. Desta forma, altos valores podem indicar substratos orgânicos de fácil assimilação ou estresse metabólico, precisando respirar mais para obtenção da manutenção celular (ANDERSON; DOMSCH, 1993; BARDGETT; SAGGAR, 1994; HARRIS, 2003). Assim, sua interpretação deve ser cautelosa e integrada com os dados de biomassa microbiana de C, respirometria e enzimologia. Uma alta taxa de respiração pode significar, em curto prazo, liberação de nutrientes para as plantas e em longo prazo, perda de carbono orgânico do solo para a atmosfera (PARKIN et al., 1996).

3.5 ENZIMOLOGIA

Enzimas são proteínas que aumentam a velocidade das reações bioquímicas (VIDAL, 1997). A atividade enzimática tem papel chave na catalisação de diversas reações importantes para a manutenção da atividade microbiana do solo, atuando principalmente na decomposição de resíduos orgânicos, na formação da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes. A atividade enzimática tem sido utilizada como indicadora da qualidade do solo, pois estas catalisam toda transformação bioquímica relacionada com a ciclagem de nutrientes (DICK, 1984; KENNEDY; PAPENDICK, 1995; BERGSTROM et al., 1998; BANDICK; DICK, 1999; BADIANE et al., 2001; DE LA PAZ JIMENEZ et al., 2002).

Muitos microrganismos produzem enzimas que são capazes de degradar células vegetais, tornando-se importantes para a decomposição e a ciclagem biogeoquímica da biomassa. Cada enzima exerce sua ação numa determinada faixa de pH e temperatura, mas existem valores de pH e temperatura ótimos em que sua ação é máxima (VERCHOT; BORELLI, 2005).

A fosfatase exerce papel chave na mineralização do fósforo. Esta enzima catalisa a hidrólise do fosfomonoéster orgânico em forma inorgânica, sendo este produto utilizado pela planta (SPINOLA et al., 2000; BRESEGHELO, 1992). Esta enzima é sintetizada e secretada extracelularmente por bactérias ou fungos e é utilizada como avaliadora da qualidade do solo (YAO et al., 2006; REVOREDO;

MELO, 2007). As fosfatases são classificadas em: ácida (pH ótimo 6,5) e alcalina (pH ótimo 11) (JUMA; TABATABAI, 1988; VERCHOT; BORELLI, 2005).

Tabatabai e Bremner (1969) demonstraram que a atividade da fosfatase ácida é predominante em solos ácidos e que a atividade da fosfatase alcalina predomina em solos alcalinos. A sua determinação envolve a estimativa colorimétrica do p -nitrofenol liberado quando o solo é incubado em uma solução tamponada do substrato p -nitrofenilfosfato.

A avaliação da desidrogenase tem por objetivo estimar a atividade metabólica dos microrganismos do solo (CASIDA, 1977). É uma enzima intracelular responsável por reações de transferências de energia através da cadeia transportadora de elétrons, transferindo H^+ e elétrons do substrato para os aceptores. A atividade da desidrogenase só está presente em células viáveis, indicando atividade biológica no solo (YAO et al., 2006). O método mais difundido para a determinação da atividade da desidrogenase no solo foi desenvolvido por Lenhard (1956) e envolve a determinação colorimétrica de 2,3,5-trifenilformazan produzido pela redução do substrato cloreto de 2,3,5-trifenitetrazólio pelos microrganismos do solo (CASIDA, 1977).

Celulases são enzimas extracelulares produzidas por microrganismos no solo, principalmente por fungos, e estão envolvidas na ciclagem do carbono, hidrolisando celulose em D-glicose (HAYANO, 1986). A celulose é o polissacarídeo estrutural mais abundante na parede celular das plantas e a atividade celulásica está diretamente relacionada à degradação dos resíduos vegetais (RAI; SRIVASTAVA, 1983). Uma maior atividade celulásica ocorre no solo rizosférico, em relação ao solo não-rizosférico. Existem diversas metodologias para estimar a atividade celulásica no solo, baseando na determinação da quantidade de açúcares redutores liberados após a degradação do substrato carboximetilcelulose (SCHINNER; VON MERSE, 1990).

A L-glutaminase é amplamente distribuída na natureza e está entre as amidohidrolases que desempenham um importante papel no suprimento de nitrogênio para as plantas, por estarem envolvidas na mineralização de formas orgânicas desse nutriente. Esta enzima hidrolisa a reação do substrato L-glutamina em ácido glutâmico e amônia. A metodologia proposta envolve a determinação da quantidade de amônia (NH_4^+) liberada quando o solo é incubado com tampão THAM e L-glutamina a 37°C por 2 horas (FRANKENBERGER; TABATABAI, 1991).

4 REFERÊNCIAS

ANDERSON, M., KJOLLER, A., STRUWE, S. Microbial enzyme activities in leaf litter, humus a mineral soil layers of European forest. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, 1527-1537, 2004.

ANDERSON, T.H., DOMSCH, K.H. The metabolic quotient form CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.25, 393-395, 1993.

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

BALOTA, E.L., COLLOZZI-FILHO, A., ANDRADE, D.S., HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solo sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.22, 641-649, 1998.

BALOTA, E.L., COLOZZI-FILHO, A., ANDRADE, D.S., DICK, R.P. Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. **Biology and Fertility of Soils**, v.38, 15-20, 2003.

BANDICK, A.K., DICK, R.P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry**, v.31, 1471-1479, 1999.

BARDGETT, R.D., SAGGAR, S. Effects of heavy metal contamination on the short-term decomposition of labeled [¹⁴C] glucose in a pasture soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, 727-733, 1994.

BEARE, M.H. et al. A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling. **Plant Soil**, v.170, p. 5-22, 1995.

BERGSTROM, D.W., MONREAL, C.M., KING, D.J. Sensitivity of soil enzyme activities to conservation practices. **Soil Science Society of America Journal**, v.62, 1286-1294, 1998.

BRESEGHELO, M.L., OLIVEIRA, I.P., THUNG, M.D.T. Respostas de cultivares de feijão ao teste de fosfatase ácida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, 647-654, 1992.

CASIDA, L.E. Microbial metabolic activity in soil as measured by desidrogenase determinations. **Applied and Environmental Microbiology**, v.34, 630-636, 1977.

CATTELAN, A.J., VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade da população microbiana do solo em funções de variação ambientais. **Revista de Ciências do Solo**, v.14, 133 -142, 1990.

COSTANZA, R., D'ARGE, R., DE GROOT, R., FABER, S., GRASSO, M., ANNON, B., LIMBURG, K., NAEEM, S., O'NEILL, R.V., PARUELO, J., RASKIN, R.G., SUTTON, P., BELT, M. The value of the world's ecosystem services and natural capital. **Nature**, v.387, 253-260, 1997.

DE LA PAZ JIMENEZ, M., DE LA HORRA, A.M., PRUZZO, L., PALMA, R.M. Soil quality: a new index based on microbiological and biochemical parameters. **Biology and Fertility of Soils**, v.35, 302-306, 2002.

DERPSCH, R. Evolução do sistema de plantio direto no Brasil e no Mundo. 8º Encontro Nacional de Plantio Direto na Palha. In: Conservando a água e preservando a vida. **Resumos**. Águas de Lindóia, 75-77, 2002.

DICK, R.P. Influence of long-term tillage and crop rotation combinations on soil enzyme activities. **Soil Science Society of America Journal**, v.48, 569-574, 1984.

DORAN, J.W., ZEISS, M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology**, v.15, 3-11, 2000.

ELLIOTT, E.T., COLEMAN, D.C. Let the soil work for us. **Ecology bull.** v.39, 23-32, 1988.

FENG, Y.M., REEVES, A.C.D.W., BURMESTER, C.H., VAN SANTEN, E., OSBORNE, J.A. Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton systems. **Soil Biology and Biochemistry**, v.35, 1693-1703, 2003.

FERNANDES, W.D., BRUNO, E.C.G, MARQUES, O.A., SALDIVAR, L.M., ZENI, K., SANTOS, H.R. Índices de diversidade da mesofauna edáfica em três ambientes na região de Dourados, MS. Congresso Brasileiro de Plantio Direto para uma Agricultura Sustentável, 1996, Ponta Grossa. **Resumos expandidos**. Ponta Grossa/ Ponta Grossa/IAPAR, 1996. 158 p.

FERREIRA, E.A.B., RESCK, D.V.S., GOMES, A.C., RAMOS, M.L.G. Dinâmica do carbono da biomassa microbiana em cinco épocas do ano em diferentes sistemas de manejo do solo no cerrado. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.31: 1625-1635, 2007.

FIGUEREDO, M.S., SOUZA, C.M., GALVÃO, J.C.C., SIQUEIRA, N.S., AGNES, E.L. Densidade do solo e estabilidade dos agregados em diferentes sistemas de preparo. Congresso Brasileiro de Plantio Direto para uma Agricultura Sustentável, 1996, Ponta Grossa. **Resumos expandidos**. Ponta Grossa/ Ponta Grossa/IAPAR, 1996.

FRANCELLI, A.L., FAVARIN, J.L. Realidade e perspectiva para o sistema de plantio direto no Estado de São Paulo. In: FRANCELLI, A.L. (eds) **Plantio Direto no Estado de São Paulo**, Piracicaba, ESALQ/USP, 1990.

FRANKENBERGER, W.T., TABATABAI, M.A. Asparaginase activity of soil. **Biology and Fertility of Soil**, v.11, 6-12, 1991.

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

HAYANO, K. Cellulase complex in tomato field soil: induction, localization and some properties. **Soil Biology and Biochemistry**, v.18, 215-219, 1986.

HENKLAIN, J.C., GUIMARÃES, M.F., VIEIRA, M.J., MEDINA, C.C. Efeito do preparo do solo no desenvolvimento radicular. Congresso Brasileiro de Plantio Direto para uma Agricultura Sustentável, 1996, Ponta Grossa. **Resumos expandidos**. Ponta Grossa/ Ponta Grossa/IAPAR, 1996.

HENROT, J., ROBERTSON, G.P. Vegetation removal in two soil tropics: Effect on microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, 111-116, 1994.

INSAN, H., DOMSCH, K.H. Relationship between soil organic carbon and microbial biomass on chronosequences of reclamation sites. **Microbiol Ecology**, v.47, 177-188, 1988.

INSAN, H., HUTCHINSON, T.C., REBER, H.H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 28, 691-694, 1996.

JUMA, N.G.; TABATABAI, M.A. Phosphatase activity in corn and soybean roots: conditions for assay and effects of metals. **Plant and Soil**, v.107, 39-47, 1988.

KENNEDY, A.C., PAPENDICK, R.I. Microbial characteristics of soil quality. **Journal of Soil and Water Conservation**, v.50, 243-248, 1995.

LENHARD, G. The dehydrogenase activity in soil as a measure of the activity of soil microorganisms. **Z. Pflanzenernaehr. Dueng. Bodenkd.** v.73, 1-11, 1956.

LOPES, A.S, WIETHOLTER, S., GUILHERME, L.R.G., SILVA, C.A. Sistema **de plantio direto: bases para o manejo da fertilidade do solo**. São Paulo: Arda, 2004.

MATOS, M.A. Atributos químicos e microbiológicos do solo após aplicações de resíduos de suínos em sistema de plantio direto. Londrina, 2006, 91 f. **Dissertação** (Mestrado em Química de Recursos Naturais) – Universidade Estadual de Londrina.

MENDES, I.C., SOUZA, L.V., RESCK, D.V.S., GOMES, A.C. Propriedades biológicas em agregados de um latossolo vermelho escuro sob plantio convencional e direto no cerrado. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.27, 435-443, 2003.

MEURER, E.J. **Fundamentos de química do solo**. Porto Alegre: Gênese, 2000.

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, 1103-1110, 2004.

MOREIRA, F.M.S., SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626p.

MUZILLI, O. Influência do sistema de plantio direto, comparado ao convencional, sobre a fertilidade da camada arável do solo. **Revista Brasileira de Ciências do solo**, Campinas, v.7, 95-102, 1983.

PARKIN, T.B., DORAN, J.W., FRANCO-VIZCAÍNO, E. Field and laboratory tests of soil respiration. In: DORAN, J.W., JONES, A. (Eds). **Methods for assessing soil quality**. MADISON: Soil Science Society of América, 231-245, 1996.

PAUSTIAN, K., COLLINS, H.P., PAUL, E.A. Management controls in soil carbon. In: PAUL, E.A., PAUSTIAN, K., ELLIOTT, E.T., COLE, C.V. (Eds.) **Soil Organic Matter in Temperate Ecosystems: Long Term Experiments in North America**. CRC Press, Boca Rotan, 15–49, 1997.

RAI, B., SRIVASTAVA, A.K. Decomposition and competitive colonization of leaf litter by fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, v.15, 115-117, 1983.

RESCK, D.V.S. Dinâmica da matéria orgânica e seus efeitos nas propriedades do solo. In: Encontro de rotação de culturas, 2. Campo Mourão. 1993. **Ata**. Campo Mourão, 117-143, 1993.

RESENDE, M., CURI, N., REZENDE, S.B., CORRÊA, G.F. **Pedologia** – Base para distinção de ambientes. 4 ed., Viçosa: NEPYT, 1-13, 2002.

REVOREDO, M.D., MELO, W.J. Enzyme activity and microbial biomass in na oxisol amended with sewage sludge contaminated with nickel. **Scientia Agricola**, v.64, 61-67, 2007.

ROMEIRO, A.R. Agriculture sustentável e tecnologia. A sustentabilidade agrícola e plantio direto. **Plantio direto: O caminho para uma agricultura sustentável**, 1996, Ponta Grossa. **Resumos**. Ponta Grossa: Ponta Grossa/IAPAR, 1997.

ROSS, D.J. Soil microbial biomass estimated by the fumigation –incubation procedure: seasonal fluctuation and influence of soil moisture content. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, 397-404, 1987.

RUFINO, R.L., BISCAIA, R.C.M, MERTEN, G.H. Perdas de solo e água por erosão na sucessão soja/trigo cultivados em plantio convencional e direto. Congresso Brasileiro de Plantio Direto para uma Agricultura Sustentável, 1996, Ponta Grossa. **Resumos expandidos**. Ponta Grossa/ Ponta Grossa/IAPAR, 1996.

SÁ, J. C. M. **Manejo da fertilidade do solo no plantio direto**. Castro: Fundação ABC, 1993. 96 p.

SANTOS, H.R. Dados preliminares sobre a mesofauna edáfica em área de implantação do sistema de plantio direto na região de Dourados/MS. Congresso Brasileiro de Plantio Direto para uma Agricultura Sustentável, 1996, Ponta Grossa. **Resumos expandidos**. Ponta Grossa/ Ponta Grossa/IAPAR, 1996.

SANTOS, J.B., JAKELAITIS, A., SILVA, A.A., VIVIAN, R., COSTA, M.D., SILVA, A.F. atividade microbiana do solo após aplicação de herbicidas em sistemas de plantio direto e convencional. **Planta Daninha**, Viçosa/MG, v.23, 683-691, 2005.

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

SCHLOTTER, M., DILLY, O., MUNCH, J.C. Indicators for evaluating soil quality. **Agriculture Ecosystems and Environmental**, v.98, 255-262, 2003.

SHAXSON, F. **Conservação do solo e d água em terrenos íngremes**. Porto Rico, 1987, 103 p.

SPINOLA, M.C.M., CICERO, S.M., MELO, M. Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causada pelo envelhecimento acelerado. **Scientia Agricola**, v. 57, 263-270, 2000.

STENBERG, B. Monitoring soil quality arable land: microbiological indicators. **Soil Plant Science**, v. 49, 1-24, 1999.

TABATABAI, M.A., BREMNER, J.M. Use of p-nitrophenol phosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology and Biochemistry**, v.1, 301-307, 1969.

TÓTOLA, M. R., CHAER, G. M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: VENEGAS, V. H. A. et al. (Eds.). Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 2002.

VERCHOT, L.V., BORELLI, T. Application of para-nitrophenol (pnp) enzyme assays in degraded tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.37, 625-633, 2005.

VIDAL, R.A. **Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas**. Porto Alegre: Palotti, 1997, 165p.

WRIGHT, A.L., HONS, F.M. Soil aggregation and carbon and nitrogen storage under soybean cropping sequences. **Soil Science Society of America Journal**, v.68, 507-513, 2004.

YAO, X., MIN, H.Z., YUAN, H. Influence of acetamiprid on soil enzymatic activities and respiration. **European Journal of Soil Biology**, v.42, 120-126, 2006.

5. Artigo: BIOINDICADORES DE QUALIDADE DE SOLO SOB PLANTIO DIRETO E CONVENCIONAL, COM E SEM ADUBAÇÃO VERDE DE INVERNO.

5.1. Introdução

Práticas agrícolas de manejo do solo como a aração, rotação de culturas e aplicação de agroquímicos interferem na microbiota do solo, que por sua vez tem importância reconhecida na ciclagem de nutrientes e na manutenção das condições físico-químicas e fertilidade do solo (PAGGA, 1997). O cultivo convencional, que imprime um intenso revolvimento do solo, representa um manejo agressivo, acarretando um declínio da saúde do solo como declínio na quantidade de matéria orgânica (ASLAM et al., 2000), perda de estrutura física (BAYER et al., 2001), alto risco de erosão (PACKER et al., 1992) e perda da diversidade e biomassa microbiana (GUPTA et al., 1994).

A semeadura direta e a rotação de culturas passaram a ser adotadas com a finalidade de diminuir os custos de produção e melhoramento das condições do solo, pois acumulam matéria orgânica (WRIGHT; HONS, 2004) principalmente nos primeiros centímetros do solo, preservando sua fertilidade e qualidade física, química e biológica (FOLLET; SCHIMEL, 1989; KAISER et al., 1995).

O maior acúmulo de material vegetal no solo aumenta a atividade biológica e assim a biomassa microbiana passa atuar como estoque de nutrientes, principalmente o nitrogênio (NEVES et al., 1999). Um dos principais fatores que regulam a mineralização do N é a relação C/N dos resíduos (CALEGARI et al., 1993). Assim, resíduos com relação C/N acima de 30 favorecem a imobilização do N pela comunidade microbiana; valores entre 20-30 há um equilíbrio entre mineralização e imobilização, enquanto que valores menores que 20 favorecem a mineralização do N durante a degradação dos resíduos orgânicos.

A maior retenção de compostos orgânicos no solo em manejo sob plantio direto deve-se ao aumento da agregação das partículas (DRURY et al., 2003), as quais promovem proteção física à matéria orgânica, influenciando a ciclagem da biomassa microbiana (ELLIOTT; COLEMAN, 1988; FENG et al., 2003). O carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana, bem como a razão C_{mic}/C_{org} e N_{mic}/N_{org} , são índices úteis para monitorar as transformações da matéria orgânica do solo (TÓTOLA; CHAER, 2002).

Atualmente, considerando a importância dos atributos biológicos para os processos que ocorrem no solo, verifica-se que estudos a respeito da quantidade e atividade da biomassa microbiana, assim como outros processos microbiológicos, podem fornecer subsídios para o planejamento do uso correto da terra. A comunidade de organismos do solo revela natureza dinâmica e é facilmente afetada por distúrbios físicos, causados pelo cultivo, ou químicos, resultantes da aplicação de fertilizantes e pesticidas (KIMPE; WARKENTIN, 1998). Neste contexto, as propriedades bioquímicas e biológicas do solo são sensíveis indicadores de qualidade (ROLDÁN et al., 2003; IZQUIERDO et al., 2003).

Atividade enzimática, taxa de respiração, biomassa microbiana, quociente metabólico são usadas como bioindicadores de alterações ambientais decorrentes do uso agrícola (BADIANE et al., 2001; MUMMEY et al., 2002; DINESH et al., 2003; DE-POLLI; PIMENTEL, 2005). Em adição às propriedades químicas e físicas, os parâmetros microbiológicos podem indicar se o manejo e as práticas estão em direção à sustentabilidade do sistema de uso/manejo do solo (NOGUEIRA et al., 2006).

O objetivo desse trabalho foi avaliar e comparar as alterações que ocorrem em alguns indicadores biológicos, físicos, químicos e bioquímicos de qualidade, em solo sob plantio direto ou convencional, com ou sem adubação verde de inverno com aveia preta, no município de Londrina/PR.

5.2. Material e métodos

A amostragem de solo, feita no mês de outubro de 2007, foi realizada na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina (23°20'31.76"S, 51°12'41.31"W), na cidade de Londrina/PR, em solo classificado como Nitossolo Vermelho Eutroférico.

Os sistemas de manejo avaliados foram: I - Plantio direto com adubação verde com aveia no inverno; II - Plantio convencional com adubação verde com aveia no inverno; III - Plantio direto sem adubação verde; IV - Plantio convencional sem adubação verde.

Os tratamentos foram dispostos em faixas de cultivo há cinco anos, desde então sendo cultivados com milho na safra de verão e com adubação verde com

aveia ou pousio no inverno. Ao longo das faixas de cultivo foram delimitadas oito parcelas, resultando num total de trinta e duas, onde o solo foi amostrado.

Foram coletadas aleatoriamente 15 amostras simples de cada parcela, na profundidade de 0-10 cm, com trado cilíndrico nas entrelinhas onde a cultura do milho foi semeada. Estas 15 amostras aleatórias, homogêneas e peneiradas (3 mm) formaram uma amostra composta. Para as análises microbiológicas e bioquímicas, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em câmara fria (5-6°C), enquanto que para as análises químicas, as amostras foram secas ao ar. A determinação da umidade do solo foi efetuada pelo método gravimétrico, secando as amostras em estufa a 105°C por 24 h, para a expressão dos resultados em g de solo seco.

A respiração basal foi avaliada em 100 g de cada amostra em frascos hermeticamente fechados contendo 10 mL de NaOH 0,25 N em um béquer para captura do CO₂. A quantificação do CO₂ foi realizada pela titulação do NaOH remanescente com solução HCl 0,25N na presença de fenolftaleína, após adição de cloreto de bário. Esta quantificação foi realizada em 24, 120 e 192 horas de incubação.

As biomassas microbianas de C e N foram estimadas por fumigação-extração (VANCE et al., 1987). Duas alíquotas de 25 g de solo por amostra foram pesadas e uma alíquota de cada amostra foi fumigada por 24 h a 28°C com clorofórmio. Ao término do período de incubação, realizaram-se a extração com K₂SO₄ 0,5 M e filtragem na seqüência. O carbono orgânico no extrato das duas alíquotas foi quantificado pela oxidação com K₂Cr₂O₇ 0,4 N e titulação do remanescente com sulfato ferroso amoniacal 33,3 mM (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 o fator K_c = 0,33.

O N da biomassa microbiana foi quantificado utilizando uma alíquota de 20 mL do mesmo extrato, adicionando solução digestora e catalisadores em tubo de digestão, realizando a digestão em bloco digestor até temperatura de 350 °C. Posteriormente, foi realizada a destilação a vapor do N, neutralizando a solução sulfúrica com NaOH 18 N, onde a captação do amônio foi feita por uma solução de ácido bórico e titulada com H₂SO₄ 0,0025 N. O N da biomassa microbiana foi calculado com um fator K_n = 0,68 (BROOKES et al., 1985). A razão entre a respiração microbiana diária e a biomassa microbiana de C forneceu o coeficiente

metabólico (qCO_2) (ANDERSON; INGRAN, 1993). E a razão entre biomassa de C e biomassa de N, forneceu a relação C/N da biomassa microbiana.

O teor de C orgânico total do solo foi determinado pela adição de 10 mL de $K_2Cr_2O_7$ 1 N e 10 ml de H_2SO_4 concentrado em 1 g de solo seco ao ar, agitando manualmente por um minuto. Após 30 minutos, adicionam-se 50 mL de água destilada, 3 mL de H_3PO_4 e 0,5 mL do indicador difenilamina 1%. Posteriormente, titulou-se com sulfato ferroso 1 N até viragem para verde.

Para determinação do N total, pesou-se 1 g de solo seco ao ar em um tubo digestor, adicionando 9 mL de solução digestora e catalisadores, procedendo-se a digestão com elevação gradativa da temperatura em bloco até $350^\circ C$. Após a destilação das amostras usando NaOH 18 N, foi realizada titulação com H_2SO_4 0,0025 N na presença de solução indicadora.

O N mineral foi quantificado pela extração com KCl 2N e subsequente destilação. Na primeira destilação, o amônio foi determinado após a adição de óxido de magnésio ao extrato, seguido de titulação com H_2SO_4 0,0025 N em solução indicadora (2% H_3BO_3 e indicadores). Em uma segunda destilação do mesmo extrato foi avaliado o nitrato convertido a amônia após a adição de liga Devarda e titulação (KEENEY; NELSON, 1982).

A taxa de amonificação foi baseada no teor de N mineral na amostra antes e depois da incubação de 100 g de solo em frasco hermeticamente fechado a $28^\circ C$ por 21 dias. A taxa de nitrificação foi calculada baseada na conversão de N amoniacal fornecido à amostra para nitrato em 21 dias, considerando o amônio adicionado e o mineralizado da matéria orgânica, bem como os teores iniciais e finais de nitrato na amostra (SCHUSTER; SCHRODER, 1990).

A determinação do teor de fósforo disponível foi realizada pela adição de 50 mL de solução extratora (Mehlich I) em 5 g de solo seco ao ar, seguido de agitação por 5 minutos a 200 rpm e filtração em papel de filtro quantitativo. A leitura colorimétrica para avaliar o teor de P disponível deu-se em espectrofotômetro a 882 nm, após 6h da adição dos reagentes (MURPHY; RILEY, 1962).

Para determinação do pH foi utilizado o método que estima a atividade do íon H^+ na suspensão do solo, utilizando-se a solução de $CaCl_2$ 0,01M. O método preconiza transferir 10 g de solo seco ao ar para um frasco de extração e adicionar 25 mL de $CaCl_2$ 0,01M. Agitar durante 15 minutos, esperar sedimentar e fazer leitura em potenciômetro (IAPAR, 1992).

A argila dispersa em água foi avaliada utilizando-se 20 g de solo seco ao ar, passados por peneira de 2 mm. Após agitações em água destilada e os devidos tempos de repouso, 10 mL do sobrenadante foram pipetados em uma placa de Petri e secos em estufa a 105°C. Após pesagem do conjunto e o desconto da tara da placa, foi calculado do teor de argila dispersa em água (EMBRAPA, 1997).

A celulase foi avaliada pela incubação de 5 g da amostra em tampão fosfato pH 5,5 por 24 h a 50°C na presença do substrato carboximetilcelulose 0,7%. Os açúcares redutores produzidos foram quantificados em espectrofotômetro (690 nm) 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} .

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

Para análise da atividade da fosfatase ácida, 0,5 g de solo foi incubado com uma solução de p-nitrofenil fosfato (0,05 M) como substrato por 30 min a 37°C, com o seu respectivo tampão (pH 6,5). Após paralisação da reação com CaCl_2 e NaOH , a mistura foi filtrada e o p-nitrofenol quantificado por espectrofotômetro a 420 nm (TABATABAI, 1994).

A atividade da glutaminase foi determinada incubando 1 g de solo em 9 mL de tampão THAM (pH 10) e 1 mL de L-glutamina 0,5 M como substrato para a enzima. Após incubação a 37°C por 2 h, o N mineral foi extraído com KCl-AgSO_4 e quantificado por destilação a vapor para a estimativa da atividade enzimática com a titulação com H_2SO_4 0,0025, expressa em μg de N g^{-1} solo seco.

O conjunto dos dados foi submetido à análise de variância (ANOVA), considerando um delineamento experimental em blocos, e comparação de médias pelo teste Tukey a $p < 0,05$ e também a Análise de Componentes Principais (ACP) a fim de se observar as relações entre as variáveis estudadas nas quatro diferentes manejos.

5.3. Resultados

Os valores da respirometria do solo e biomassa microbiana de carbono (Tabela 1) não apresentaram diferenças significativas entre si, considerando os tratamentos de manejo do solo e adubação verde.

Tabela 1. Atividade microbiana (liberação de CO₂), carbono da biomassa microbiana (CBM), relação C/N da biomassa microbiana, coeficiente metabólico (qCO₂), carbono total, a razão carbono microbiano e carbono orgânico (Cmic/Corg) em solo sob plantio direto e convencional, com ou sem adubação verde com aveia no inverno.

Variável	Manejo			
	Plantio direto		Plantio convencional	
	+ aveia	- aveia	+ aveia	- aveia
Respirometria ($\mu\text{g CO}_2 \text{g}^{-1} \text{d}^{-1}$)	48,0 ± 6,6a	41,3 ± 5,6a	49,9 ± 8,3a	52,2 ± 6,9a
CBM ($\mu\text{g g}^{-1}$)	845,8 ± 147a	730,8 ± 238a	760,3 ± 106a	799,1 ± 98a
Relação C/N BM	11,6 ± 2b	12,0 ± 3b	16,8 ± 4a	18,1 ± 7a
qCO₂ ($\text{ng CO}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{biomassa C h}^{-1}$)	2,4 ± 0,6a	2,7 ± 1,5a	2,8 ± 0,6a	2,7 ± 0,4a
Carbono total (g kg^{-1})	53,1 ± 3a	52,8 ± 4a	49,5 ± 4a	48,6 ± 6a
Cmic/Corg	1,6 ± 0,3a	1,4 ± 0,4a	1,5 ± 0,2a	1,6 ± 0,2a

Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Analisando a relação C/N da biomassa microbiana nota-se um valor mais alto no plantio convencional sem aveia em relação à área de plantio direto, independentemente da adubação verde com aveia. Transformando os valores da respirometria e biomassa de carbono em qCO₂, percebe-se que os tratamentos não diferiam significativamente entre si, apenas tendendo o qCO₂ a ser menor no solo sob manejo de plantio direto com aveia.

Em relação ao carbono orgânico total, também não houve efeito significativo dos tratamentos, apenas tendência de maior valor no sistema de plantio direto e menor tendência na área de manejo de solo convencional sem cobertura verde. Comparando os dados do carbono orgânico total e a variável Cmic/Corg, que representa a proporção do carbono da biomassa microbiana em relação ao carbono total do solo, os valores médios nos diferentes tratamentos também não diferiram entre si.

As variáveis relacionadas à dinâmica do nitrogênio, diferentemente das avaliadas em relação ao carbono, apresentaram efeitos significativos relacionadas

ao manejo do solo. Em relação aos dados do nitrogênio da biomassa microbiana (Tabela 2), observa-se um valor significativamente maior na área de plantio direto com adubação verde em relação às duas áreas sob plantio convencional. Analisando o nitrogênio total, nota-se que sob manejo em plantio direto houve maiores teores em relação ao plantio convencional, independentemente da adubação verde com aveia.

A porcentagem da Nmic/Norg foi maior na presença de aveia como adubo verde de inverno e manejo sob plantio direto, enquanto que essa variável foi menor sob manejo convencional. A taxa de amonificação se apresentou menor no tratamento sob plantio convencional que recebeu adubação verde com aveia. Já a taxa de nitrificação não sofreu efeito significativo dos tratamentos.

Não foram observadas diferenças significativas quanto ao pH do solo e nos teores de argila dispersa em água (Tabela 3). Os teores de fósforo disponível foram significativamente maiores sob plantio direto, cerca de o dobro, em relação às áreas sob plantio convencional, sem que houvesse efeito da adubação verde com aveia no inverno.

Tabela 2. Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), nitrogênio total, razão nitrogênio microbiano e nitrogênio orgânico (Nmic/Norg), taxa de amonificação e nitrificação em solo sob plantio direto e convencional, com ou sem adubação verde com aveia no inverno.

Variável	Manejo			
	Plantio direto		Plantio convencional	
	+ aveia	- aveia	+ aveia	- aveia
NBM ($\mu\text{g g}^{-1}$)	73,7 \pm 11a	60,4 \pm 14ab	46,5 \pm 9b	50,4 \pm 19b
Nitrogênio total (g N kg $^{-1}$)	2,4 \pm 0,2a	2,4 \pm 0,3a	2,2 \pm 0,1b	2,1 \pm 0,1b
Nmic/Norg	3,1 \pm 0,6a	2,5 \pm 0,5ab	2,1 \pm 0,4b	2,3 \pm 0,8b
Taxa Amonificação ($\mu\text{g Ng}^{-1}\text{dia}^{-1}$)	0,09 \pm 0,14a	0,13 \pm 0,10a	-0,05 \pm 0,08b	0,17 \pm 0,03a
Taxa nitrificação (%)	33,2 \pm 4,8a	35,0 \pm 1,9a	32,1 \pm 3,3a	31,4 \pm 2,2a

Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 3. pH, argila dispersa em água (ADA) e fósforo disponível (P disponível) em solo sob plantio direto e convencional, com ou sem adubação verde com aveia no inverno.

Variável	Manejo			
	Plantio direto		Plantio convencional	
	+ aveia	- aveia	+ aveia	- aveia
pH (CaCl ₂)	6,0±0,2a	6,0±0,2a	5,9±0,2a	6,0±0,1a
ADA (g kg ⁻¹)	56,9±24a	51,2±16a	54,4±20a	56,2±16a
P disponível (µg g ⁻¹)	12,1±2,4a	10,1±4,0a	5,3±1,4b	6,7±2,8b

Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A atividade da desidrogenase (Tabela 4) foi semelhante nos dois diferentes manejos na presença de aveia, mas foi maior sob plantio convencional sem aveia, não diferindo do tratamento sob plantio direto, também sem aveia. A maior atividade da celulase foi observada em plantio convencional, mostrando redução sob manejo em plantio direto, principalmente sem aveia como adubo verde.

Na atividade da glutaminase, os tratamentos sob plantio convencional com ou sem de aveia não diferiram entre si, entretanto, aumentou no plantio direto, com aumento ainda mais expressivo no tratamento com adubação verde. A menor atividade da fosfatase ácida foi observada no solo sob manejo convencional sem aveia, em relação aos demais tratamentos.

Tabela 4. Atividade da desidrogenase, celulase, glutaminase e fosfatase ácida em solo sob plantio direto e convencional, com ou sem adubação verde com aveia no inverno.

Variável	Manejo			
	Plantio direto		Plantio convencional	
	+ aveia	- aveia	+ aveia	- aveia
Desidrogenase (µgTTF g ⁻¹)*	29,2±2,8b	33,3±5,8ab	28,9±5,0b	38,6±7,3a
Celulase (µgA.R. g ⁻¹)**	502±65b	419±88c	648 ±143a	585 ±63ab
Glutaminase (µgN g ⁻¹)	242±49a	183±46b	106±45c	92±32c
Fosfatase ácida (µgPNF g ⁻¹ ***)	922±63a	844±87a	915±53a	695±46b

*TTF= Trifenil formazana; **A.R.=açúcar redutor;***para-nitrofenil. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A análise de componentes principais (PCA) indicou clara separação dos tratamentos no plano fatorial com bases nas variáveis físicas e químicas, e nas

microbiológicas e bioquímicas (Figura 1), exceto as relacionadas ao ciclo do N, que foram analisadas separadamente, pelo fato de essas variáveis terem sofrido mais interferências do manejo, conforme observado na análise univariada. As áreas sob plantio convencional com adubação verde (PCCV) e plantio direto sem adubação verde (PDSV) se posicionaram na porção positiva do eixo 1 da componente principal, enquanto que as áreas sob plantio convencional sem adubação verde (PCSV) e plantio direto com adubação verde (PDCV) se posicionaram na porção negativa. Porém, analisando o eixo 2 da componente principal, houve nítida separação das áreas estudadas por tipo de manejo. As áreas sob plantio convencional com ou sem cobertura vegetal se posicionaram na porção positiva do eixo 2 da componente principal, enquanto que os tratamentos sob plantio direto com ou sem adubação verde posicionaram-se na porção negativa.

As variáveis que mais correlacionaram com o eixo 2 na porção positiva da componente principal foram celulase, relação C/N da biomassa microbiana e com menor intensidade de correlação, respirometria, desidrogenase, a razão C_{mic}/C_{org} e qCO_2 . Já as variáveis que se correlacionaram com maior intensidade com a porção negativa do eixo 2 da componente principal foram as variáveis fósforo e carbono total; e com menor intensidade foram o carbono da biomassa microbiana, relação C/N da matéria orgânica, argila dispersa em água, fosfatase ácida e pH.

Ainda considerando o eixo 2 da componente principal, as variáveis celulase, respirometria e qCO_2 foram as que mais se relacionaram com a área sob plantio convencional com adubação verde e a variável desidrogenase, com a área sob plantio convencional sem adubação verde. As variáveis fósforo disponível e Carbono total foram as que mais se relacionaram com o plantio direto.

Analisando as variáveis do ciclo do nitrogênio, também houve uma clara separação das áreas estudadas (Figura 2). Nesse caso, o eixo 1 separou claramente o sistema de plantio direto do sistema convencional, enquanto que o eixo 2 separou a realização ou não da adubação verde de inverno. Posicionaram positivamente, em relação ao eixo 1 da componente principal, as áreas sob plantio direto com ou sem adubação verde e negativamente, as áreas com plantio convencional, com ou sem adubação verde. Nesse caso, as variáveis: biomassa microbiana de nitrogênio, Razão N_{mic}/N_{org} , glutaminase, nitrogênio total, taxa de amonificação e nitrificação se correlacionaram positivamente com as áreas sob

plântio direto. Nota-se, que nenhuma variável se correlacionou com a porção negativa do plano fatorial, analisando o eixo 1 da componente principal.

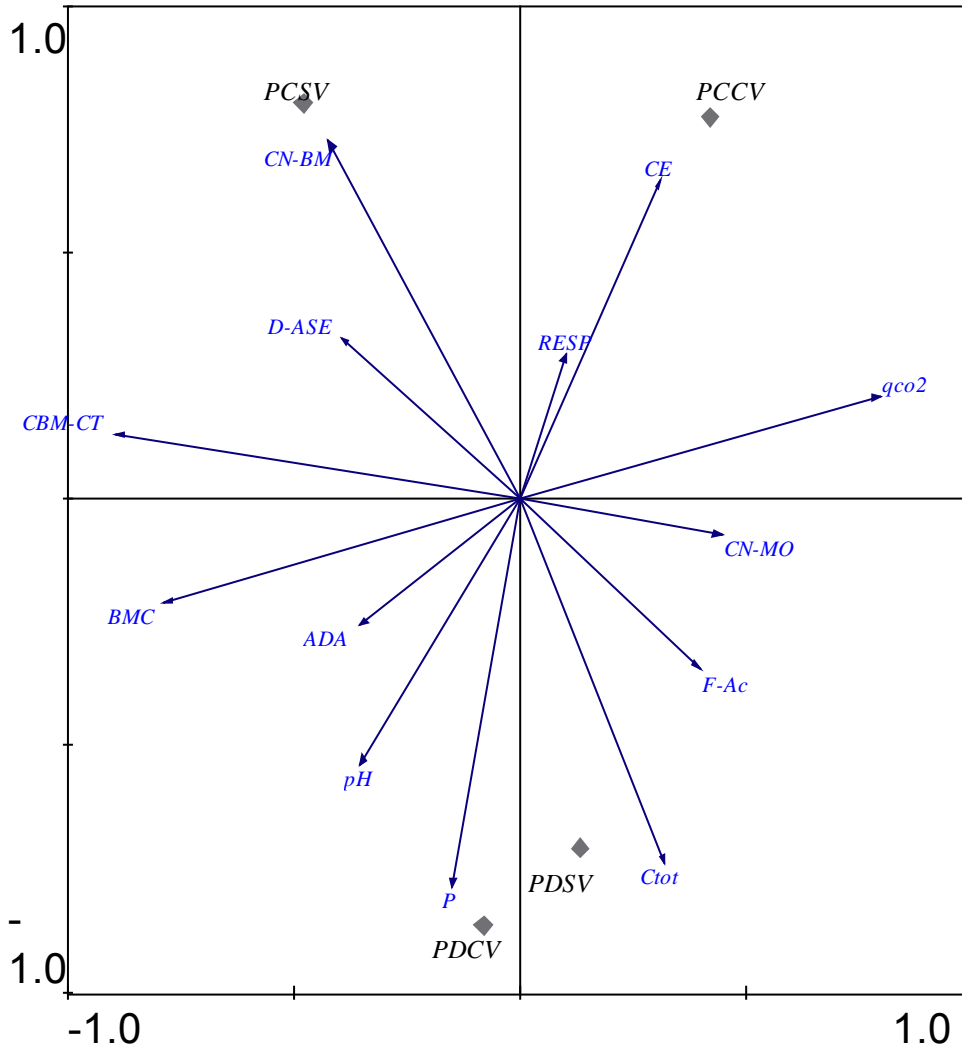


Figura 1. Plano fatorial da análise dos Componentes Principais (PCA) baseada nas variáveis D-ase = desidrogenase, CE = celulase, F-Ac = fosfatase ácida, RESP = respirometria, qCO₂, CN-BM = relação C/N da biomassa microbiana, CN-MO = relação C/N da matéria orgânica, CBM-CT = razão Cmic/Corg, BMC = biomassa microbiana de carbono, Ctot = carbono total, ADA = argila dispersa em água, pH e P = fósforo e nas áreas estudadas PCCV = plântio convencional com adubação verde, PCSV = plântio convencional sem adubação verde, PDCV = plântio direto com adubação verde e PDSV = plântio direto sem adubação verde. Eixo 1 = 25,0 % ; Eixo 2 = 22,2%.

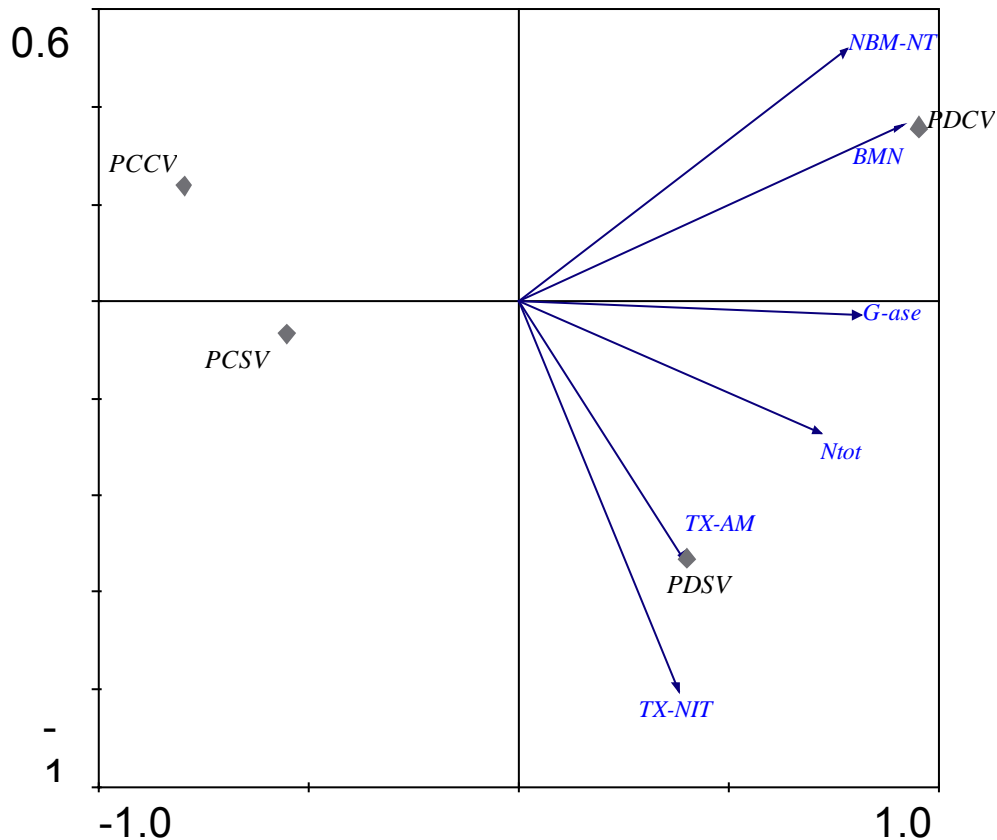


Figura 2. Plano fatorial da análise dos Componentes Principais (PCA) baseada nas variáveis NBM-NT = razão Nmic/Norg, BMN = nitrogênio da biomassa microbiana, G-ase = glutaminase, Ntot = nitrogênio total, TX-AM = taxa de amoficação e TX-NIT = taxa de nitrificação e nas áreas estudadas PCCV = plantio convencional com adubação verde, PCSV = plantio convencional sem adubação verde, PDCV = plantio direto com adubação verde e PDSV = plantio direto sem adubação verde. Eixo 1 = 48,5%; Eixo 2 = 23,4%.

5.4. Discussão

5.4.1. Variáveis relacionadas à dinâmica do carbono no solo

Com relação à respirometria, não se observou efeito significativo do plantio convencional quando comparado com solo sob plantio direto, bem como da adubação verde com aveia. De acordo com Follet e Schimel (1989) a maior liberação de CO₂ geralmente é relacionada à maior atividade biológica que por sua vez está diretamente relacionada com a quantidade de carbono lábil existente no solo, principalmente em decorrência da adubação verde de inverno. Porém, a interpretação dos resultados da atividade biológica pela respirometria deve ser feita

com critério, uma vez que níveis altos podem significar em curto prazo, liberação de nutrientes para as plantas e em longo prazo, perda de carbono orgânico do solo para a atmosfera (PARKIN et al., 1996). Desta forma, altos valores podem indicar substratos orgânicos de fácil assimilação ou estresse metabólico, precisando a comunidade microbiana respirar mais para a manutenção celular (ANDERSON; DOMSCH, 1993; BARDGETT; SAGGAR, 1994; HARRIS, 2003).

Relatos de maior respiração basal do solo sob plantio direto em relação ao plantio convencional têm sido observados (FOLLET; SCHIMEL, 1989; BALOTA et al., 1998; VARGAS; SCHOLLES, 2000). Vargas e Scholles (2000) relatam que o sistema de plantio direto, ao longo dos anos, leva a um maior acúmulo de matéria orgânica rica em carboidratos, compostos nitrogenados, o que leva a um aumento da biomassa microbiana e seus metabólitos, em comparação ao solo sob preparo convencional, possibilitando uma maior atividade microbiana. Entretanto, no presente trabalho, o período de instalação do experimento sob manejo diferenciado ainda não foram suficientes para causar efeitos significativos na atividade microbiana mensurada pelo desprendimento de CO₂. Esse resultado está de acordo com Sá (1993), também no Paraná, em que efeitos do manejo diferenciado sobre o carbono do solo, e conseqüentemente a atividade microbiana, somente foram perceptíveis após 6 ou 7 anos de adoção.

A biomassa microbiana do solo é considerada um sensível indicador de qualidade do solo, porque representa a fração ativa e biodegradável da matéria orgânica e reflete as tendências de mudanças no carbono orgânico do solo em curto, médio e longo prazo, nas frações de ciclagem mais lentas (FEIGL et al., 1998). Neste estudo, não houve efeito significativo do sistema de manejo do solo sobre a biomassa microbiana de carbono, porém o solo sob plantio direto com adubação verde tendeu a apresentar maior valor que o solo sob plantio convencional sem adubação verde.

Desta forma, a qualidade do resíduo da cobertura vegetal que retorna ao solo influencia a comunidade microbiana. O aporte do material orgânico incorporado ao solo via depósito de plantas, implica em um maior acúmulo de carbono pela biomassa microbiana e uma melhora nas condições de desenvolvimento microbiano. Nestas condições, há um fornecimento constante de material orgânico mais susceptível à decomposição, permanecendo o solo coberto, com menor variação e níveis mais adequados de temperatura e umidade (SANTOS et al., 2004). Kandeler

et al. (1999) encontraram valores superiores de biomassa de carbono nas áreas de cultivo mínimo e aumento de 50%, na profundidade de 0-10 cm, após três anos da introdução do plantio direto em áreas sob manejo convencional. Entretanto, nas condições do presente trabalho esses efeitos mais evidentes devem aparecer num período mais longo.

Stenberg (1999) afirma que a quantidade de carbono da biomassa microbiana reflete a presença de maior quantidade de matéria orgânica no solo, elevando a taxa de decomposição dos restos vegetais, e por fim, reciclando mais nutrientes. Resck (1993) observou que o plantio direto é o sistema que melhor protege a matéria orgânica, pois se assemelha a um ambiente não perturbado, favorecendo a um aumento da biomassa microbiana do solo (MENDES et al., 2003), sem causar oxidação acelerada do carbono orgânico, comparativamente a um solo sob plantio convencional. O revolvimento excessivo do solo e a exposição da comunidade microbiana a condições estressantes reduzem o carbono microbiano, por envolver baixa manutenção da cobertura vegetal, maior aplicação de agroquímicos e maior revolvimento do solo (REGANOLD et al., 2000). Esses efeitos provavelmente são mais evidentes em solos mais pobres, como os do cerrado, naturalmente com baixos teores de matéria orgânica, em que um manejo que favoreça ao seu aumento reflita rapidamente no aumento da atividade biológica. No solo em estudo, naturalmente mais fértil, esses efeitos podem levar mais tempo para serem observados.

A relação C/N da biomassa microbiana é considerada um parâmetro indicativo da composição da microbiota do solo em diferentes grupos microbianos, tais como fungos e bactérias. Valores altos desta relação sugerem predominância de fungos sobre bactérias, uma vez que a relação C/N é de 5:1 para bactérias e 10:1 para fungos (CHEN et al., 2003). Esta relação não apresentou valores significativamente distintos nas diferentes áreas avaliadas nesse trabalho.

O coeficiente metabólico (qCO_2) também não apresentou diferença estatística entre as diferentes áreas analisadas, apenas tendendo a ser menor na área sob plantio direto com adubação verde, provavelmente devido à maior eficiência da utilização dos compostos orgânicos pela comunidade microbiana, num ambiente menos adverso. Segundo Tótola e Chaer (2002), é possível usar essa ferramenta para avaliar o efeito do manejo na dinâmica dos microrganismos do solo. Para Insam e Domsch (1988) e Sakamoto e Obo (1994) a respiração microbiana por unidade de biomassa microbiana diminui em sistemas mais estáveis. À medida que

a biomassa microbiana se torna mais eficiente na utilização de recursos do ecossistema, menos CO₂ é perdido pela respiração e maior proporção de C é incorporada aos tecidos microbianos, o que resulta em diminuição do qCO₂ (SILVA et al., 2007). Balota et al. (1998) encontram valores de qCO₂ no sistema de plantio direto 28% inferiores ao manejo convencional. Já Alvarez et al. (1995) encontraram valores de qCO₂ 60% maiores no plantio convencional em relação ao plantio direto, na profundidade de 0-5 cm. No presente trabalho, um aumento de 14% considerando o plantio direto em relação ao plantio convencional não foi estatisticamente significativo.

Segundo Bardgett e Sagar (1994), valores elevados de qCO₂ indicam condições de estresses ou distúrbios nos ecossistemas. Uma das razões para isso pode ser pelo fato de que este tipo de manejo promove o rompimento dos macro e microagregados, tornando a matéria orgânica mais susceptível ao ataque microbiano, devido a sua incorporação ao solo, aumentando a liberação de CO₂ para a atmosfera (SIX et al., 2000). Esse comportamento seria mais esperado de acontecer nos sistemas sob plantio convencional.

Bayer e Mielniczuk (1997), avaliando características químicas do solo, perceberam que o teor de carbono orgânico total se assemelhou a um ecossistema natural somente quando os sistemas de cultivos adicionavam grandes quantidades de resíduos vegetais ao solo, com métodos de preparo sem revolvimento ou com revolvimento reduzido. Lima et al. (1994) verificaram a redução de 6% de carbono orgânico total ao comparar uma área sob plantio direto por 20 anos com um campo nativo de um solo na região de Ponta Grossa, no Paraná. De acordo com Santos et al. (2004) o maior teor de carbono orgânico total é resultado do não revolvimento do solo e da maior preservação dos resíduos orgânicos na superfície.

Os valores de Cmic/Corg não diferiram estatisticamente entre os tratamentos. Silva et al. (2007) em seu trabalho encontraram valores de Cmic/Corg maiores na área sob mata nativa (3,8%), seguido da área sob plantio direto (2,5%) e plantio convencional (2,3%). Segundo Anderson e Domsch (1989), a relação Cmic/Corg pode variar numa ampla faixa, que vai do valor de 0,27 a 7%. De acordo com Sparling (1992), a variação da razão Cmic/Corg pode mostrar a eficiência da conversão do carbono microbiano, as perdas de carbono do solo e a estabilização do carbono orgânico pela fração mineral. Essas avaliações indicam se o conteúdo

de carbono está estável ou variando de acordo com as condições impostas ao sistema de manejo do solo empregado.

5.4.2. Variáveis relacionadas à dinâmica do nitrogênio no solo

O nitrogênio da biomassa microbiana apresentou um aumento significativo no solo sob plantio direto quando comparado ao preparo convencional. Balota et al. (1998), avaliando alterações na atividade microbiana em sucessões de culturas em manejo convencional e plantio direto, em experimento de campo em um Latossolo Roxo distroférico, observaram valores de 20 a 67 $\mu\text{g N (g solo}^{-1}\text{)}$, tendo o plantio direto apresentado os maiores valores frente ao manejo convencional. Entretanto, no presente trabalho a amplitude de variação foi um pouco menor (de 46 a 73 $\mu\text{g g}^{-1}$), provavelmente pelo fato de o solo em estudo (Nitossolo Vermelho eutroférico) apresentar maior fertilidade natural.

Santos et al. (2004), tomando com referência um solo mantido sob condições naturais, observou uma redução no valor do nitrogênio da biomassa microbiana em 81% para o sistema de cultivo contínuo de arroz com preparo convencional do solo e de 69% para a rotação arroz x soja x milho, também sob manejo convencional. Já o plantio direto de arroz sobre a resteva de azevém apresentou o maior teor de nitrogênio microbiano. Venzke Filho (1999) relata que a maior quantidade de nitrogênio microbiano pode indicar maior potencial de mineralização de nitrogênio, o qual pode ser disponibilizado às plantas.

Os teores de nitrogênio total variaram de 2,15 a 2,42 g kg^{-1} , apresentando os maiores valores nas áreas sob plantio direto. Isto indica que o sistema de manejo de solo tem efeito na quantidade de nitrogênio total no solo, sendo esse efeito mais sensível para o nitrogênio que para o carbono, visto que este último não foi influenciado pelos tratamentos no presente trabalho. Santos et al. (2004) encontraram maiores teores de nitrogênio total em áreas sob condições naturais, enquanto que no sistema de plantio direto de arroz em rotação com cultura de azevém no inverno houve somente a diminuição de 8% do teor de nitrogênio total em comparação ao solo em condições naturais. Por outro lado, houve uma diminuição de 40% nos teores de nitrogênio total nos solos sob cultivo convencional.

Silva et al. (2001) também observaram a redução de 40% nas reservas de nitrogênio do solo, ao comparar áreas cultivadas no sistema convencional e com

rotação de culturas, com áreas mantidas sob condições naturais. Na área onde se cultivou maior número de espécies vegetais ao longo de 17 anos, principalmente a cultura de soja, houve diminuição de 44% do teor de nitrogênio total em relação ao solo mantido sob condições naturais.

A porcentagem da relação N_{mic}/N_{org} apresentou valores médios variando entre 2,09 a 3,08%. A maior relação N_{mic}/N_{org} foi observada no solo sob plantio direto com aveia, podendo representar a maior capacidade da microbiota do solo em armazenar frações significativas de nitrogênio em sua biomassa microbiana (WARDLE; HUNGRIA, 1994; GAMA-RODRIGUES et al., 1997).

A taxa de amonificação é um processo biológico em que o nitrogênio amoniacal é mineralizado a partir dos compostos de nitrogênio orgânico do solo. A mineralização do nitrogênio, além de depender de ação microbiana, também depende dos estoques de nitrogênio orgânico no solo, podendo este ser disponibilizado à comunidade microbiana e vegetal (INSAM et al., 1996). Assim, a taxa de amonificação negativa observada no solo sob plantio convencional com adubação verde indica uma imobilização de nitrogênio, denotando que em função do substrato orgânico fornecido à comunidade microbiana pela adubação verde com aveia, há uma imobilização do N do solo, pelo menos momentaneamente. Por outro lado, esse efeito não foi observado no sistema de plantio convencional com adubação verde de inverno. Isso se deve provavelmente ao fato de que a biomassa das plantas da adubação verde não é incorporada ao solo de uma só vez, mas gradativamente à medida que é revolvida na superfície do solo. Além disso, no tratamento sob plantio direto e com adubação verde de inverno, os estoques de N no solo são maiores, como apresentado pelo N da biomassa microbiana, teor de N total e a proporção N microbiano: N total. Na condição de plantio direto, a presença da adubação verde não leva a imobilização do N.

Já a taxa de nitrificação, representada pelo potencial de conversão do N-amoniacal a N-nitrato, denota o potencial em perda de nitrogênio do sistema por lixiviação e desnitrificação. Menores taxas de nitrificação representam menor potencial de perdas de nitrogênio, porém esta variável não apresentou diferença significativa entre os tratamentos.

5.4.3. Variáveis não-biológicas

O pH apresentou pouca variação numa faixa de leve acidez, estando sempre numa faixa adequada para o desenvolvimento das culturas (MELLO et al., 1983), sem que houvesse efeito do manejo e adubação verde sobre essa variável.

Segundo Costa et al. (2003) altos teores de argila caracterizam, geralmente, solo com maior resistência às alterações físicas resultantes do manejo. Em seu estudo, mostraram que o plantio direto frente ao convencional proporciona maior estabilidade dos agregados do solo, indicando um efeito positivo do não-revolvimento do solo e acúmulo de resíduos vegetais na superfície do solo. Porém, esta variável não mostrou diferença significativa entre os tratamentos no presente estudo.

O fósforo é um nutriente essencial às plantas, sendo que a forma orgânica, dependendo da característica do solo, pode representar a maior parte do fósforo total do solo. O fósforo disponível do solo apresentou diferenças entre os sistemas de cultivo, sendo maior no plantio direto que no plantio convencional. Este resultado corrobora outros resultados de que o fósforo tende a ser acumulado nas camadas mais superficiais do solo no sistema de plantio direto (SÁ, 1993; RHEINHEIMER et al., 1998).

5.4.4. Atividades enzimáticas

A enzima intracelular desidrogenase é utilizada como indicadora da atividade microbiológica no solo (NANNIPIERI et al., 1990), enquanto que as exoenzimas indicam o potencial em degradar determinados compostos. A atividade da desidrogenase é considerada um indicador do metabolismo oxidativo no solo e também da atividade microbiológica (LENHARD, 1956; GARCÍA et al., 1997). É uma enzima exclusivamente intracelular e está relacionada com presença de células viáveis (BASTIDA et al., 2006; NAYAT et al., 2007).

A atividade da desidrogenase foi significativamente maior na área de plantio convencional sem cobertura verde em relação aos demais tratamentos. Essa atividade aumentada pode ser decorrência de um maior nível de estresse metabólico enfrentado pela microbiota presente neste tipo de manejo. Apesar de não

significativo, o valor do CO_2 nesta área está entre um dos maiores valores encontrados. Desta forma, as células viáveis precisam respirar mais para manutenção da sua biomassa microbiana, o que resulta num aumento do fluxo de elétrons e mais desprendimento de CO_2 pela respiração, como observado pelo aumento da atividade da desidrogenase. Assim sendo, a atividade da desidrogenase deve ser analisada com cautela, integrando os dados obtidos com os da atividade biológica, relacionada ao metabolismo microbiano, principalmente a respirometria e o $q\text{CO}_2$.

A celulase, relacionada ao ciclo do C, atua na hidrólise da celulose aos seus monômeros que são essenciais como fontes de energia e C para os microrganismos. A enzima celulase apresentou maior atividade na área de plantio convencional com a presença de aveia. De acordo com Nayak et al. (2007) a maior oferta de substrato a ser degradado estimula a atividade dos microrganismos, favorecendo ao aumento da atividade de enzimas hidrolíticas que clivam este tipo de substrato. Como o manejo convencional revolve o solo, a matéria orgânica se torna mais susceptível à degradação pelos microrganismos, pela sua incorporação ao solo, justificando este aumento da atividade da celulase.

Enzimas atuantes no ciclo do N como glutaminase são responsáveis pela mineralização do nitrogênio orgânico, disponibilizando-o para plantas e microrganismos (TABATABAI; BREMNER, 1972). Houve diferenças na atividade da glutaminase nos diferentes tratamentos, sugerindo que a diferença tenha sido propiciada pelo tipo de manejo e adubação verde. O maior valor foi obtido na área sob plantio direto com presença de cobertura vegetal, relacionado diretamente com o nitrogênio da biomassa total e relação N_{mic}/N_{org} , os quais também apresentaram maiores valores nesses tratamentos. Assim, a maior disponibilidade de substrato orgânico justifica a maior atividade enzimática no tratamento sob plantio direto e com adubação verde de inverno. A cobertura vegetal e as formas de manejo do solo exercem forte influência na atividade biológica e nas condições físico-químicas do solo, conseqüentemente na atividade enzimática (WEANER et al., 1994; AON et al., 2001).

As fosfatases hidrolisam formas orgânicas de P para forma inorgânica, liberando formas minerais (fosfato) para plantas e microrganismos (SPEIR; ROSS, 1978; TABATABAI, 1994). As fosfatases podem ter origem vegetal, animal ou microbiana (TARAFDAR; MARSCHNER, 1994) e suas atividades variam de acordo

com o pH do solo, sendo classificada em ácida e alcalina (TABATABAI; BREMNER, 1969). A enzima fosfatase ácida apresentou menor atividade no tratamento sob manejo convencional sem aveia, podendo este resultado ser relacionado ao menor teor matéria orgânica e, conseqüentemente, menor disponibilidade de fósforo orgânico, que é o substrato da enzima. O plantio convencional, com sucessivos revolvimentos, causa desagregação da estrutura do solo, podendo causar prejuízos à atividade microbiana, além de propiciar rápida oxidação de seu substrato orgânico, diminuindo assim, a atividade enzimática (DENG; TABATABAI, 1997). Doran (1980) e Carneiro (1999) também observaram que a atividade da fosfatase ácida em áreas sob plantio direto foi superior à de áreas sob plantio convencional, indicando maior disponibilidade de fosfato na forma orgânica, além de maior atividade microbiana e de raízes.

5.4.5. Análise de Componentes Principais

A análise dos componentes principais mostrou evidente separação entre as áreas avaliadas e a relação com as variáveis que mais influenciaram nessa separação. As áreas sob plantio convencional apresentaram maiores semelhanças entre si, enquanto que as áreas sob plantio direto foram mais correlacionadas.

No caso das variáveis relacionadas ao ciclo do carbono, as áreas sob plantio convencional apresentaram maiores relações com a celulase, relação C/N da biomassa microbiana, desidrogenase, respirometria, qCO_2 e razão C_{mic}/C_{org} . Já nas áreas sob plantio direto, as variáveis relacionadas foram fósforo, carbono total, pH, fosfatase ácida, argila dispersa em água, relação C/N da matéria orgânica e biomassa microbiana de carbono.

Considerando o eixo 2 da componente principal para as variáveis relacionadas ao ciclo do carbono, as áreas sob plantio convencional se mostraram discrepantes das áreas sob plantio direto. Nesse caso, a variável desidrogenase foi mais relacionada a com plantio convencional sem adubação verde (PCSV), enquanto que a celulase com o plantio convencional com cobertura verde (PCCV). Esse comportamento está diretamente relacionado com a presença ou não de material vegetal e revolvimento do solo. A ausência de cobertura verde e o excessivo revolvimento do solo promoveram um nível de estresse metabólico na área PCSV, enquanto que a presença de cobertura vegetal e sua incorporação no

solo promoveram oferta de substrato para ser degradado, estimulando a atividade microbiana e o aumento de enzimas hidrolíticas (NAYAK et al., 2007).

No caso das áreas sob plantio direto, o teor de fósforo disponível e o carbono orgânico total se correlacionaram com as duas áreas sob plantio direto (PDCV e PDSV). O fato de essas variáveis terem se relacionado opostamente às áreas sob plantio convencional, em que o solo é intensamente revolvido e há um favorecimento da desestabilização dos agregados do solo e oxidação da matéria orgânica, indica, no caso do fósforo, uma diluição do nutriente na camada superficial do solo com o revolvimento constante, e conseqüente diminuição dos teores de C orgânico que é oxidado no manejo convencional (SPACCINI et al., 2001).

Em relação às variáveis do ciclo do nitrogênio, o eixo 1 da componente principal separou as área sob plantio direto das áreas sob plantio convencional, enquanto que o eixo 2 separou o efeito da adubação verde de inverno. De maneira geral, todas as variáveis do ciclo do N foram favorecidas no manejo sob plantio direto. A prática de adubação verde de inverno, por sua vez, favoreceu a biomassa microbiana de N e a relação N_{mic}/N_{org} , o que é atribuível não só ao não revolvimento do solo, que promove maior capacidade de armazenamento de nitrogênio pela microbiota do solo em sua biomassa microbiana, mas também à entrada de resíduos orgânicos pelo adubo verde de inverno. Já no caso da não adoção da adubação verde, houve maior relação com as taxas de nitrificação e amonificação. Esses dois processos mais acelerados nessa condição de manejo podem ser desfavoráveis se ocorrerem concomitantemente, podendo levar a perdas do N-mineralizado por lixiviação de nitrato ou desnitrificação.

5.5. Conclusões

As variáveis relacionadas ao ciclo do C foram pouco influenciadas pelo manejo do solo e adubação verde. Entretanto, as variáveis baseadas no ciclo do N apresentaram maior dinâmica em função dos tratamentos, permitindo elegê-las como indicadores mais sensíveis aos efeitos do manejo e cobertura vegetal do solo.

Dentre as formas de manejo do solo, o sistema de plantio direto em que se emprega adubação verde de inverno apresentou características microbiológicas e bioquímicas mais favoráveis à sustentabilidade.

Referências bibliográficas

ALVAREZ, R., DIAZ, R.A., BARBERO, N., SANTANATOGLIA, O.J., BALOTTA, L. Soil organic carbon, microbial biomass and CO₂-C production from three tillage systems. **Soil Tillage Research**, v. 33, 17-28, 1995.

ANDERSON, T.H., DOMSCH, K.H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 21, 471-479, 1989.

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

AON, M.A.; COLANERI, A.C. Temporal and spatial evolution of enzymatic activities and physico-chemical properties in an agricultural soil. **Applied Soil Ecology**, v.18, 255-270, 2001.

ASLAM, T., CHOUDHARY, M.A., SAGGAR, S. Influence of land-use management on CO₂ emissions from a silt loam soil in New Zealand. **Agricultural Ecosystem Environment**, v.77, 257-262, 2000.

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

BALOTA, E.L., COLLOZZI-FILHO, A., ANDRADE, D.S., HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solo sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.22, 641-649, 1998.

BARDGETT, R.D., SAGGAR, S. Effects of heavy metal contamination on the short-term decomposition of labeled [¹⁴C] glucose in a pasture soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, 727-733, 1994.

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, 2503-2507, 2006.

BAYER, C., MARTIN-NETO, L., MIELNICZUK, J., PILLON, C.N., SANGOI, L. Changes in soil organic matter fractions under subtropical no-till cropping systems. **Soil Science Society American Journal**, v.65, 1473-1478, 2001.

BAYER, C., MIELNICZUK, J. Características químicas do solo afetado por métodos de preparo e sistemas de cultura. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v.21, 105-112, 1997.

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, 837-842, 1985.

CALEGARI, A., MONDARDO, A., BULISANI, E.A., COSTA, M.B.B. da, MIYASAKA, S., AMADO, T.J.C. Aspectos gerais da adubação verde. In: COSTA, M.B.B. da (Coord.). **Adubação verde no sul do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 1-56, 1993.

CARNEIRO, R.G. Dinâmica de parâmetros biológicos associados ao ciclo do fósforo em solo de Cerrado sob diferentes sistemas de manejo. Florianópolis. Universidade de Santa Catarina, 1999. 86p. (Tese de Mestrado).

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

CHEN, G., ZHUZHANG, Y. Soil activities and carbon nitrogen fixation. **Reserch in Microbiology**, v.154, 393-398, 2003.

COSTA, F.S., ALBURQUERQUE, J.A., BAYER, C., FONTOURA, S.M.V., WOBETO, C. Propriedades físicas de um solo latossolo bruno afetadas pelos sistemas plantio direto e preparo convencional. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v.27, 527-535, 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, 141-146, 1997.

DE-POLLI, H., PIMENTEL, M.S. Indicadores de qualidade do solo. In: AQUINO, A.M., ASSIS, R.L. (Ed.) **Processos biológicos no sistema solo-planta: Ferramenta para uma agricultura sustentável**. Brasília: Embrapa-SCT, 17-28, 2005.

DINESH, R., GHOSHAL CHAUDHURI, S., GANESHAMURTHY, A.N., DEY, C. Changes in soil microbial indices and their relationships following deforestation and cultivation in wet tropical forests. **Applied Soil Ecology**, v.24, 17-26, 2003.

DORAN, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society American Journal**, v.44, 765-771, 1980.

DRURY, C.F., TAN, C.S., REYNOLDS, W.D., WELACKY, T.W., WEAVER, S.E., HAMILL, A.S., VYN, T.J. Impacts of zone tillage and red clover on corn performance and soil physical quality. **Soil Science Society American Journal**, v.67, 867-877, 2003.

ELLIOTT, E.T., COLEMAN, D.C. Let the soil work for us. **Ecology bull**, v.39, 23-32, 1988.

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

FEIGL, B.J., SPARLING, G.P., ROSS, D.J. et al. Soil microbial biomass in Amazonian soil: evaluation of methods and estimates of pool sizes. **Soil Biology and Biochemistry**, v.27, 1467-1472, 1998.

FENG, Y.M., REEVES, A.C.D.W., BURMESTER, C.H., VAN SANTEN, E., OSBORNE, J.A. Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton systems. **Soil Biology and Biochemistry**, v.35, 1693-1703, 2003.

FOLLET, R.F., SCHIMEL, D.S. Effect of tillage practices on microbial biomass dynamics. **Soil Science Society of América Journal**, v. 53, 1091-1096, 1989.

GAMA-RODRIGUES, E.F., GAMA-RODRIGUES, A.C., BARROS, N.F. Biomassa microbiana de carbono e nitrogênio de solos sob diferentes culturas florestais. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 21, 361-365, 1997.

GARCÍA, C., HERNÁNDEZ, M.T., COSTA, F. Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. **Community Soil Science Plant Anal.**, v.28, 123-134, 1997.

GUPTA, V.V.S.R., ROPER, M.M., KIRKEGAARD, J.A., ANGUS, J.F. Changes in microbial biomass and organic matter levels during the first year of modified tillage and stubble management practices on a red earth. **Australian Journal Soil Research**, v.32, 1339-1354, 1994.

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

IAPAR. **Manual de análise química do solo e controle de qualidade**. Londrina: IAPAR, 1992.

INSAN, H., DOMSCH, K.H. Relationship between soil organic carbon and microbial biomass on chronosequences of reclamation sites. **Microbiol Ecology**, v.47, 177-188, 1988.

INSAN, H., HUTCHINSON, T.C., REBER, H.H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. **Soil Biology and Biochemistry**, v.28, 691-694, 1996.

IZQUIERDO, I., CARAVACA, F., ALGUACIL, M.M., ROLDÁN, A. Changes in physical and biological soil quality indicators in a tropical crop system (Havana, Cuba) in response to different agroecological management practices. **Environment Management**, v.32, 639-645, 2003.

KAISER, E.A., MARTENS, R., HEINEMEYER, O. Temporal changes in soil microbial biomass carbon in an arable soil. **Plant and Soil**, v. 170, 287-295, 1995.

KANDELER, E., TSCHERKO, D., SPIEGEL, H. Long-term monitoring of microbial biomass, N mineralization and enzyme activities of a chernozem under different tillage management. **Biology and Fertility of Soils**, v.28, 343-351, 1999.

KEENEY, D.R., NELSON, D.W. Nitrogen inorganic forms. In: Page, A.L. et al (eds). Methods of soil analysis. Part.2: Chemical and Microbiological Properties American Society of Agronomy – **Soil Science of America**, 643-698, 1982.

KIMPE, C.R., WARKENTIN, B.P. Soil functions and the future of natural resources. In.: BLUME, H.P., EGER, H., FLEISHHAUER, E., HEBEL, A., REIJ, C., STEINER, K.G. (eds). Towards sustainable land use – Furthering cooperation between people and institutions. **Advances Geoecology**, v.31, 3-10, 1998.

LENHARD, G. The dehydrogenase activity in soil as a measure of the activity of soil microorganisms. *Z. Pflanzenernaehr. Dueng. Bodenkd*, v.73, 1-11, 1956.

LIMA, V.C., LIMA, J.M.J.C., EDUARDO, B.J.F.P. et al. Conteúdo de carbono e biomassa microbiana em agrossistemas: comparação entre métodos de preparo do solo. **Agrárias**, Curitiba, v.13, nº 1-2, 297-302, 1994.

MELLO, F.A.F. et al. **Fertilidade do solo**. 4. ed. São Paulo: Nobel, 1983.

MENDES, I.C., SOUZA, L.V., RESCK, D.V.S., GOMES, A.C. Propriedades biológicas em agregados de um latossolo vermelho escuro sob plantio convencional e direto no cerrado. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, 27, 435-443, 2003.

MUMMEY, D.L., STAHL, P.D., BUYER, J.S. Microbial biomarkers as an indicator of ecosystem recovery following surface mine reclamation. **Applied Soil Ecology**, v.21, 251-259, 2002.

MURPHY, J., RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analitic Chemistry Acta**, v.27, 31-36, 1962.

NANNIPIERI, P., GREGOS, S., CECCANTI, B. Ecological significance of the biological activity in soil. In: Bollag, J.M., Stotzy, G. (Eds.). **Soil Biochemistry**, vol. 6. Marcel Dekker, New York, USA, 293-355, 1990.

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

NEVES, R., FLECK, N. G., VIDAL, R. A. Intervalo de tempo para semeadura de milho pós-dessecação da cobertura de aveia-preta com herbicidas. **Ciência Rural**, v. 29, 603-608, 1999.

NOGUEIRA, M.A., ALBINO U.B., BRANDÃO-JÚNIOR, O., BRAUN, G., CRUZ, M.A., 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, 237-247, 2006.

PAGGA, U. Testing biodegradability with standardized methods. **Chemosphere**, v.35, 2953-2972, 1997.

PARKIN, T.B., DORAN, J.W., FRANCO-VIZCAÍNO, E. Field and laboratory tests of soil respiration. In: DORAN, J.W., JONES, A. (Ed). Methods for assessing soil quality. MADISON: **Soil Science Society of América**, 231-245, 1996.

REGANOLD, J.P., GLOVER, J.D., ANDREWS, P.K. Systematic method for rating soil quality of conventional, organic and integrate apple orchards in Washington state. **Agriculture Ecosystem Environment**, v.80, 29-45, 2000.

RESCK, D.V.S. Dinâmica da matéria orgânica e seus efeitos nas propriedades do solo. In: Encontro de rotação de culturas, 2. Campo Mourão, 1993. **Ata**. Campo Mourão, 117-143, 1993.

RHEINHEIMER, D.S., KAMINSKI, J., LUPATINI, G.C, SANTOS, E.J.S. Modificações em atributos químicos de solo arenosos sob sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, 715-723, 1998.

ROLDÁN, A., CARAVACA, F., HERNANDEZ, M.T., GARCÍA, C., SÁNCHEZ-BRITO, C., VELASQUEZ, M., TISCAREÑO, M. No-tillage, crop residue additions, and legume cover cropping effects on soil quality characteristics under maize in Patzcuaro watershed (Mexico). **Soil Tillage Research**, v.72, 65-73, 2003.

SÁ, J.C.M. **Manejo da fertilidade do solo no plantio direto**. Castro: Fundação ABC, 1993.

SAKAMOTO, K., OBO, Y. Effects of fungal to bacterial ratio on the relationship between CO₂ evolution and total microbial. **Biology and Fertility Soil**, v. 17, 39-44, 1994.

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, 333-338, 2004.

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

SCHUSTER, E., SCHRODER, D. Side effects of sequentially-applied pesticides on target soil microorganisms: field experiments. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 22, 367-373, 1990.

SILVA, C.A., TORRES, E., SOARES, R. et al. Estoques de carbono e nitrogênio de latossolo do Paraná sob diferentes sistemas de cultivo. In: Encontro Brasileiro sobre Substâncias Húmicas, 2001. Viçosa/MG. **Anais**, Viçosa, 68-70, 2001.

SILVA, M.B., KLIEMANN, H.J., SILVEIRA, P.M., LANNA, A.C. Atributos biológicos do solo sob influência da abertura vegetal e do sistema de manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, nº 12, 1755-1761, 2007.

SIX, J., PAUSTIAN, K., ELLIOT, E.T., COMBRINK, C. Soil structure and organic matter: distribution of aggregate-size classes and aggregate associated carbon. **Soil science Society of America Journal**, v. 64, 681-689, 2000.

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, 1-22, 2001.

SPARILING, P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indication of changes in soil organic matter. **Australian Journal Soil Research**, v.30, 195-200, 1992.

SPEIR, T. W., ROSS, D. J. Soil phosphatase and sulphatase. In: Burnes, R.G. (eds) **Soil Enzymes**, 197-250, 1978.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. **Soil Science**, v.49, 1-24, 1999.

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: WEAVER, R.W., ANGLE, S. BOTTAMLEY, P.J., eds. Methods of soil analysis: Microbiological and biochemical properties. **Soil Science Society of America**, 775-883, 1994.

TABATABAI, M.A., BREMNER, J.M. Assay of urease activity in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.4, 479-487, 1972.

TABATABAI, M.A., BREMNER, J.M. Use of p-nitrophenol phosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology and Biochemistry**, v.1, 301-307, 1969.

TARAFDAR, J.C., MARSCHNER, H. Phosphatase activity in the rhizosphere and hyphosphere of VA mycorrhizal wheat supplied with inorganic and organic phosphorus. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, 387-395, 1994.

TÓTOLA, M.R., CHAER, G.M. **Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos**. VENEGAS, V.H.A. et al. (Eds.). Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do solo, 2002.

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

VARGAS, L.K., SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de C-CO₂ e N mineral de um podzólico vermelho-escuro submetido a diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v. 24, 24-34, 2000.

VENZKE FILHO, S.P. Microbiota e sua atividade em uma cronosequência sob sistema de plantio direto. Piracicaba, 1999. 65 f. Dissertação (Mestrado em solos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

WARDLE, D.A., HUNGRIA, M.A. Biomassa microbiana do solo e sua importância nos ecossistemas terrestre. In; ARAUJO, R.S., HUNGRIA, M. **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa, 195-216, 1994.

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

WRIGHT, A.L., HONS, F.M. Soil aggregation and carbon and nitrogen storage under soybean cropping sequences. **Soil Science Society American Journal**, v.68, 507–513, 2004.