



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

RAFAELA RUY

**INDICADORES MICROBIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE  
QUALIDADE EM SOLO DE BAIXA FERTILIDADE NATURAL  
QUE RECEBEU CALAGEM E ADUBAÇÃO FOSFATADA**

---

Londrina  
2014

RAFAELA RUY

**INDICADORES MICROBIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE  
QUALIDADE EM SOLO DE BAIXA FERTILIDADE NATURAL  
QUE RECEBEU CALAGEM E ADUBAÇÃO FOSFATADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, área de concentração: Microbiologia, linha de Pesquisa: Ecologia Microbiana da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Dr. Marco Antonio Nogueira

Londrina  
2014

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca  
Central da Universidade Estadual de Londrina.**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

R985i Ruy, Rafaela.

Indicadores microbiológicos e bioquímicos de qualidade em solo de baixa fertilidade natural que recebeu calagem e adubação fosfatada / Rafaela Ruy. – Londrina, 2014.  
89 f. : il.

Orientador: Marco Antonio Nogueira.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2014.  
Inclui bibliografia.

1. Solos – Qualidade – Teses. 2. Indicadores (Biologia) – Teses. 3. Solos – Teor de fósforo – Teses. 4. Calagem dos solos – Teses. 5. Solos ácidos – Teses. I. Nogueira, Marco Antonio. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. III. Título.

CDU 631.461

RAFAELA RUY

**INDICADORES MICROBIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE  
QUALIDADE EM SOLO DE BAIXA FERTILIDADE NATURAL QUE  
RECEBEU CALAGEM E ADUBAÇÃO FOSFATADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, área de concentração: Microbiologia, linha de Pesquisa: Ecologia Microbiana da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Dr. Marco Antonio Nogueira  
Embrapa Soja

---

Prof. Dr. Waldemar Zangaro Filho  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Dr. André Shigueyoshi Nakatani  
Embrapa Soja/CNPq

---

Ph.D. Mariangela Hungria  
Embrapa Soja  
1ª suplente

---

Prof. Dr. André Luíz Martinez de Oliveira  
Universidade Estadual de Londrina – UEL  
2º suplente

Londrina, 26 de Fevereiro de 2014

Aos meus pais dedico este trabalho.

## Agradecimentos

Deixo aqui minha eterna gratidão ao meu orientador Dr. Marco Antonio Nogueira, por ser este exemplo de pessoa, pelo seu trabalho e pela maneira com que ele interage com cada orientando seu, humanizando sempre a pesquisa científica.

Agradeço também a Dr<sup>a</sup> Mariangela Hungria, pessoa da qual eu sempre tinha ouvido maravilhas e que descobri que realmente era tudo isso e mais um pouco.

Agradeço a todo o pessoal do laboratório de biotecnologia do solo, em especial, a equipe do bioindicadores que colaborou mais diretamente com o meu trabalho, mas também àqueles que contribuíram com seu “bom dia” motivador, com as longas conversas durante os almoços e nos cafés (tomados com uma pontualidade inglesa). A todos os funcionários da Embrapa-Soja, pois sempre foram muito prestativos comigo.

Ao Dr. Waldemar Zangaro e ao Dr. André Shigueyoshi Nakatani pelas contribuições feitas a este trabalho.

Ao prof. Dr. Eduardo Fávero Caires, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, por disponibilizar a área experimental para amostragem de solo.

A minha família, pois mesmo que acreditassem que eu estava me precipitando ao optar por um curso de mestrado (eles estavam certos), me deram todo o apoio para concluir o curso. Muito obrigada pai e mãe por cada viagem feita a Londrina, por me ajudarem nas mudanças, no financeiro e principalmente no emocional.

A meu marido por encarar metade da responsabilidade comigo, por acreditar o suficiente no meu sonho para mudar de cidade e de vida, por amadurecer antes do tempo para me acompanhar, por renunciar a si mesmo muitas vezes em prol do nosso relacionamento.

A meus sobrinhos, minhas desculpas por ter passado com vocês menos tempo do que eu gostaria. Desculpas também a todos os animais que perdi nesses anos dedicados ao mestrado.

Também quero agradecer a todas as escolas onde eu trabalhei, aonde fui muito bem recebida pelos diretores, professores, equipe pedagógica, funcionários e alunos, desde quando eu era apenas aluna especial do programa. Obrigada a todos vocês pelo apoio, compreensão e companhia.

:

“É preciso trabalhar todo dia,  
toda madrugada,  
para mudar um pedaço de horta,  
uma paisagem, um homem.  
Mas mudam, essa é a verdade.”

Domingos Pellegrini

RUY, Rafaela. **Indicadores microbiológicos e bioquímicos de qualidade em solo de baixa fertilidade natural que recebeu calagem e adubação fosfatada**. 2014. 89 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

## RESUMO

A sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola pode ser medida pelo seu impacto na qualidade do solo. Atributos microbiológicos e bioquímicos foram utilizados como bioindicadores de qualidade em solo de baixa fertilidade natural que recebeu duas fontes de adubação fosfatada (superfosfato triplo e fosfato natural reativo) e dois modos de calagem (calagem superficial e incorporada), além dos respectivos controles, em arranjo fatorial 3 x 3. Amostraram-se quatro profundidades de solo (0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm), sendo que os efeitos mais pronunciados nas propriedades microbiológicas e bioquímicas foram observados nas camadas superficiais. A calagem superficial aumentou a atividade das enzimas do solo, a respiração basal e diminuiu a biomassa microbiana, mas a calagem incorporada resultou em efeitos negativos nas camadas superficiais do solo, onde o papel microbiano é mais pronunciado. Para o fator adubação fosfatada, o superfosfato triplo favoreceu a atividade microbiana em todas as profundidades, exceto propriedades envolvidas na mineralização e absorção de P pelas plantas, como atividade da fosfatase ácida e a colonização micorrízica, com pequena diminuição. A calagem superficial, apesar de seu efeito menos pronunciado nas camadas mais profundas do solo, apresentou-se como uma alternativa menos impactante aos atributos microbiológicos e bioquímicos que a calagem incorporada; por sua vez, a adição de P solúvel favoreceu a maioria dos atributos avaliados, indicando que a baixa disponibilidade de P também é limitante às comunidades microbianas no solo de baixa fertilidade natural.

**Palavras-chave:** Bioindicadores. Fósforo. Calagem. Solo ácido.

RUY, Rafaela. **Microbiological and biochemical indicators of quality in a low-natural fertility soil that received liming and phosphate fertilization**. 2014. 89 p. Dissertation (Master in Microbiology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

## **ABSTRACT**

The sustainability of agricultural systems can be measured by its impact on soil quality. Microbiological and biochemical attributes were used as bioindicators of soil quality in a low-natural fertility soil that received two sources of phosphorus (triple superphosphate and natural reactive phosphate) and different liming strategy (superficial and incorporated), in addition to their respective controls, in a 3 x 3 factorial arrangement. Sampling was performed at four depths (0-5, 5-10, 10-20 and 20-40 cm), and stronger effects were observed at the top layers. The superficial liming increased enzyme activities, basal respiration, and decreased the microbial biomass, whereas the incorporated liming resulted in negative effects in the superficial layers of soil, where the microbial role in soil quality is more pronounced. For the factor phosphate fertilization, triple superphosphate stimulated microbial activity in all depths, except properties associated with P mineralization and uptake, like phosphatase activity and mycorrhizal colonization, which decreased. The surface liming, despite less pronounced effect at deeper soil layers, showed less impact on microbiological and biochemical attributes of soil than the incorporated liming; whereas soluble P stimulated most of the assessed attributes, showing that low P availability is also limiting to the microbial communities in the low-natural fertility soil.

**Keywords:** Bioindicators. Phosphorus. Liming. Acid soil.

## LISTA DE FIGURAS:

- Figura 1.** Croqui da área experimental, em que o fator calagem está representado pelas diferentes texturas. Pontilhado: calcário na superfície. Listras horizontais: calcário incorporado. Listras diagonais: sem calcário. O fator fósforo é representado pela letra T seguida de número. T2: superfosfato triplo. T3: fosfato natural reativo. T7: sem adubação fosfatada.) ..... 44
- Figura 2.** Respiração basal (RB), nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p>F$  ..... 51
- Figura 3.** Carbono da biomassa microbiana (CBM), nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p>F$  ..... 52
- Figura 4.** Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p>F$  ..... 53
- Figura 5.** Atividade da desidrogenase, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p>F$  ..... 53
- Figura 6.** Atividade da L-glutaminase, nas profundidades de 0-5 e 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p>F$  ..... 54

<b>Figura 7.</b>	Atividade da fosfatase ácida, nas profundidades de 0-5 e 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de $p>F$ .....	54
<b>Figura 8.</b>	Atividade da $\beta$ -glucosidase, nas profundidades de 0-5, 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de $p>F$ .....	55
<b>Figura 9.</b>	Atividade da enzima celulase, nas profundidades de 0-5, 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de $p>F$ .....	56
<b>Figura 10.</b>	Atividade da arilsulfatase, nas profundidades de 0-5, 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de $p>F$ .....	56
<b>Figura 11.</b>	Atividade de hidrólise de diacetato de fluoresceína, nas profundidades de 0-5, 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de $p>F$ .....	57
<b>Figura 12.</b>	Porcentagem de colonização por fungos micorrízicos arbusculares, em raízes obtidas na profundidade de 0-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de $p>F$ .....	57
<b>Figura 13.</b>	Carbono orgânico total, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de $p>F$ .....	58

- Figura 14.** Teor de fósforo disponível, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$  ..... 59
- Figura 15.** pH do solo em  $\text{CaCl}_2$  0,01 mol L<sup>-1</sup>, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$  ..... 59
- Figura 16.** Análise de componentes principais com variáveis microbiológicas e bioquímicas obtidas na profundidade de 0-5 cm do solo (*Resp* = respiração basal, *BMC* = carbono da biomassa microbiana, *BMN* = nitrogênio da biomassa microbiana, *Aril* = arilsulfatase, *D-ase* = desidrogenase, *B-glu* =  $\beta$ -glucosidase, *Celu* = celulase, *F-ase* = fosfatase ácida, *FDA* = diacetato de fluoresceína, *Glut* = glutaminase), onde foram plotadas também as variáveis suplementares relativas a atributos químicos do solo (CTC = capacidade de troca de cátions, C = carbono orgânico do solo, P = fósforo disponível e pH). C0 = sem calagem, CS = calagem superficial, CI = calagem incorporada, P0 = sem fosfato, SFT = superfosfato triplo, FNR = fosfato natural reativo ..... 60
- Figura 17.** Análise de componentes principais com variáveis microbiológicas e bioquímicas obtidas na profundidade de 5-10 cm do solo (*Resp* = respiração basal, *BMC* = carbono da biomassa microbiana, *BMN* = nitrogênio da biomassa microbiana, *Aril* = arilsulfatase, *D-ase* = desidrogenase, *B-glu* =  $\beta$ -glucosidase, *Celu* = celulase, *F-ase* = fosfatase ácida, *FDA* = diacetato de fluoresceína, *Glut* = glutaminase), onde foram plotadas também as variáveis suplementares relativas a atributos químicos do solo (CTC = capacidade de troca de cátions, C = carbono orgânico do solo, P = fósforo disponível e pH). C0 = sem calagem, CS = calagem superficial, CI = calagem incorporada, P0 = sem fosfato, SFT = superfosfato triplo, FNR = fosfato natural reativo ..... 61

## LISTA DE ABREVIATURAS:

Aril	arilsulfatase
ATP	Adenosina tri-fosfato
CBM	Carbono da Biomassa Microbiana
NBM	Nitrogênio da Biomassa Microbiana
BMS	Biomassa Microbiana do Solo
Celu	Celulase
CMC	carboximetilcelulose
CTC	Capacidade de troca de cátions
Dhase	desidrogenase
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
F-ase	Fosfatase ácida
FDA	diacetato de fluoresceína
FMA	fungos micorrízicos arbusculares
FNR	Fosfato natural reativo
Glut	glutaminase
IAPAR	Instituto Agronômico do Paraná
K <sub>C</sub>	fator de correção para o carbono da biomassa microbiana
K <sub>N</sub>	fator de correção para o nitrogênio da biomassa microbiana
MO	Matéria Orgânica
MUB	“Modified Universal Buffer” (Tampão universal modificado)
PNG	p-nitrofenil-β-D glicosídeo
P <sub>o</sub>	Fósforo orgânico
qCO <sub>2</sub>	Quociente metabólico
Resp	Respiração basal do solo
SFT	Superfosfato triplo
SPD	Sistema de Plantio Direto
TTC	Cloreto de trifenil tetrazólio
TTF	Trifenil tetrazólio formazana
β-glu	β-glucosidase

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	17
<b>3.</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	18
<b>4.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
4.1	MANEJO DO SOLO .....	20
4.2	FÓSFORO .....	21
4.3	CALCÁRIO .....	23
4.4	TRANSFORMAÇÕES BIOLÓGICAS DO P.....	25
4.5	PLANTIO DIRETO.....	28
4.6	ROTAÇÃO DE CULTURAS.....	29
4.7	INDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO .....	30
4.8	MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO .....	33
4.9	BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO .....	34
4.10	RESPIRAÇÃO DO SOLO.....	36
4.11	QUOCIENTE METABÓLICO– $qCO_2$ .....	37
4.12	ATIVIDADE DE ENZIMAS.....	38
4.12.1	Enzimas relacionadas à atividade metabólica geral .....	39
4.12.2	Enzimas Envolvidas nos Ciclos Biogeoquímicos .....	39
4.13	MICORRIZAS .....	41
<b>5.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	43
5.1	DESCRIÇÃO DAS ÁREAS E PROCEDIMENTOS DE AMOSTRAGEM.....	43
5.2	RESPIRAÇÃO BASAL.....	45
5.3	BIOMASSA MICROBIANA .....	45
5.4	DESIDROGENASE .....	46
5.5	CELULASE .....	46
5.6	FOSFATASE ÁCIDA .....	46
5.7	ARILSULFATASE.....	47

5.8	$\beta$ -GLUCOSIDASE .....	47
5.9	GLUTAMINASE .....	48
5.10	HIDRÓLISE DE DIACETATO DE FLOURESCEÍNA - FDA.....	48
5.11	COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA.....	49
5.12	ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO.....	49
5.13	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	50
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>51</b>
<b>7.</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>
<b>8.</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>69</b>
<b>9.</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>70</b>
<b>APÊNDICES</b>	<b>.....</b>	<b>82</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A demanda mundial por alimentos pressiona a expansão de áreas de cultivo em países produtores, como o Brasil, além da intensificação do uso do solo, com impactos que podem levar à diminuição da biodiversidade nele contida e da sua qualidade biológica. Entretanto, a sustentabilidade da produção agrícola depende diretamente da qualidade dos solos; seu uso intensivo e inadequado tem levado à degradação, comprometendo a sustentabilidade dos sistemas de produção, o que demanda estudos para avaliar que atributos são alterados e qual seu potencial para serem empregados como indicadores para tomadas de decisão sobre melhor o uso e manejo do solo.

A sustentabilidade agrícola requer o uso e gestão otimizada da fertilidade química do solo, além de suas propriedades físicas, as quais são influenciadas por processos biológicos e pela biodiversidade do solo. Isto implica em gestão de práticas que melhorem a qualidade biológica do solo e, assim, aumentem a produtividade em longo prazo (SINGH; PANDEY, 2011). Recentemente mais atenção tem sido dada a impactos de longo prazo da agricultura na biologia e bioquímica do solo, as quais são fundamentais para sua função ecológica (DICK, 1992).

Os microrganismos têm sido cada vez mais associados à qualidade ambiental, tanto por seu papel fundamental na manutenção dos ecossistemas, como por sua sensibilidade a variações impostas ao ambiente (SILVEIRA; FREITAS, 2007), sejam estas de origem natural, sejam de origem antropogênica. Propriedades microbiológicas e bioquímicas podem então representar indicadores sensíveis e precoces de alterações da qualidade do solo induzida pelo manejo, porque estas são alteradas em menos tempo em comparação a outros atributos, como o teor de matéria orgânica ou atributos físicos do solo (GIACOMETTIA, 2013). Porém, é importante destacar que a qualidade do solo é complexa, cujos padrões variam nos diversos ambientes, o que dificulta a obtenção de um valor absoluto para interpretação.

O fósforo (P) é um recurso limitante para a produtividade agrícola, devido a sua baixa disponibilidade, principalmente nos solos de regiões tropicais e subtropicais. Por isso, a adubação fosfatada é necessária para aumentar a produtividade agrícola, embora parte deste nutriente fique indisponível para as

plantas devido a sua baixa mobilidade e fixação no solo. Os microrganismos solubilizadores de fosfatos desempenham importante papel na disponibilização de formas não lábeis de fosfatos (Ca-P, Al-P e Fe-P), aumentando o teor de fósforo solúvel na solução do solo, que propicia melhor crescimento vegetal e maior rendimento das culturas (RALSTON; MC BRIDE, 1976). Os microrganismos também servem como imobilizadores temporários de nutrientes, sendo o P da biomassa microbiana compartimento bastante dinâmico, que absorve e imobiliza P da solução do solo, quando do aumento da sua disponibilidade no sistema, mas o libera gradativamente pelo ajustamento da comunidade microbiana ao fornecimento de energia e P no sistema (CONTE et al., 2002).

A agricultura sustentável envolve a gestão dos recursos ambientais para a produção agrícola, de modo a satisfazer as necessidades humanas, mas mantendo a qualidade ambiental e a conservação dos recursos naturais para o futuro (SINGH; PANDEY, 2011). Assim, se faz necessário o monitoramento dos efeitos do uso do solo sobre atributos que possam ser relacionados com a sustentabilidade do sistema de produção, como os envolvidos na ciclagem de carbono e nutrientes. Em que pese a importância de atributos relativos à química e à física do solo, os atributos microbiológicos e bioquímicos são importantes ferramentas que também devem ser consideradas no monitoramento, para que se possa obter uma visão mais ampla do termo “sustentabilidade”.

## **2. OBJETIVOS**

O objetivo desse trabalho foi avaliar atributos microbiológicos e bioquímicos em um solo que recebeu calagem em duas formas de aplicação (superficial e incorporada), combinadas com duas fontes de adubo fosfatado (superfosfato triplo e fosfato natural reativo) e seus respectivos controles, aplicados a um solo de baixa fertilidade natural, na região dos Campos Gerais, em Ponta Grossa PR, visando verificar a sensibilidade de bioindicadores relacionados à ciclagem do carbono, nitrogênio e fósforo, para serem usados como ferramentas de avaliação da qualidade do solo.

### 3. JUSTIFICATIVA

É fato que quando a vegetação natural é substituída pela agricultura, o solo sofre alterações nas suas propriedades químicas, físicas e biológicas. A proporção do impacto está diretamente relacionada com o manejo do sistema de produção adotado e, por isso, práticas agrícolas que pretendem minimizar a degradação do solo e proporcionar maior sustentabilidade da agricultura têm recebido cada vez mais a atenção de pesquisadores e produtores.

A agricultura moderna tem demandado uma crescente necessidade de identificar parâmetros que estimem, de modo eficiente e rápido, as modificações que ocorrem no solo. A qualidade de um solo pode ser mensurada pelo uso de indicadores microbiológicos e bioquímicos que englobam os atributos que reproduzem o *status* ambiental ou a condição de sustentabilidade que o solo se encontra, visto que estes atributos são muito sensíveis às alterações no uso e manejo do solo.

#### 4. REVISÃO DE LITERATURA

A agricultura altera grandes extensões territoriais, com influência sobre complexos nichos ecológicos e na cadeia alimentar de diversos organismos, em razão da substituição da vegetação natural, e conseqüente quebra do equilíbrio, para o estabelecimento, em muitos casos, de monoculturas. Para auxiliar no planejamento dessa atividade, é essencial que se dispunha de parâmetros que indiquem a sua sustentabilidade, e que funcionem como “termômetros” de avaliação, quantificando e indicando o grau de conservação ou de degradação de um dado sistema (DE-POLLI; PIMENTEL, 2005).

Na conversão de sistemas naturais para agrícolas, muitos atributos do solo são alterados, alguns dos quais, por estarem relacionados com processos do ecossistema e serem sensíveis a variações no uso e manejo do solo, indicam alterações na sua qualidade (D'ANDRÉA et al., 2002). Indicadores biológicos de qualidade do solo descrevem a importância ecológica dos processos que nele ocorrem (DORAN; SAFLEY, 1997), portanto, uma variedade de atributos microbiológicos e bioquímicos deve ser usada quando se quer avaliar o impacto do uso e manejo na qualidade do solo (GIACOMETTIA, 2013).

O solo, em seu estado natural, encontra-se coberto pela vegetação, que o protege da erosão e lhe fornece um aporte contínuo de carbono orgânico. O rompimento dessa relação para o estabelecimento de áreas agrícolas provoca alterações físicas, químicas e biológicas, as quais, se não forem adequadamente monitoradas e controladas, levam à queda de produtividade e à degradação do ecossistema (SILVA; SIQUEIRA; COSTA, 2004).

A contínua remoção de nutrientes pelas culturas, sem sua reposição por meio de fontes orgânicas ou fertilizantes minerais, leva à diminuição dos teores de nutrientes e, conseqüentemente, à degradação do solo e redução da produtividade, o que é limitante para a produção sustentável de alimentos. Vários estudos têm mostrado que a depleção progressiva de nutrientes é um resultado comum em solos agrícolas em todo o mundo (DÍAZA et al., 2011), os quais precisam ser repostos. Esse problema é ainda maior em solos de baixa fertilidade natural, como os dos Campos Gerais do Paraná.

A calagem e a adubação fosfatada são práticas de manejo da fertilidade do solo que têm o objetivo de melhorar as propriedades químicas do solo e elevam o rendimento das culturas, especialmente em solos ácidos e deficientes em fósforo, como os que predominam no sul do Brasil (ERNANI et al., 2000).

Os solos das regiões tropicais e subtropicais, em geral com alto grau de intemperismo, caracterizam-se por uma mineralogia dominada por óxidos e hidróxidos de Fe e Al, baixa capacidade de trocas catiônicas (CTC), baixo pH, baixa saturação por bases e alto teor de Al trocável (LAPIDO-LOUREIRO; MELAMED, 2006). O tratamento mais adequado consiste na aplicação de calcário para atenuar a acidez e repor bases, o que também contribui, dependendo do manejo, para preservar ou aumentar os teores de matéria orgânica via aumento do aporte de resíduos orgânicos ao solo pelas plantas que passam a se desenvolver com maior vigor. Isso acaba, em longo prazo, resultando no aumento da CTC, principalmente pelos radicais carboxílicos e fenólicos das frações humificadas do carbono orgânico do solo (BODZIAK JR; MAAK, 1946).

Apesar das chuvas abundantes e bem distribuídas na região dos Campos Gerais do Paraná, a vegetação predominante é de estepe, sendo classificada como Formação Gramíneo-lenhosa da Estepe Ombrófila (LEITE, 1994). O termo “Estepe” aplicado aos campos sulinos, tem como argumento fundamental o clima ameno planaltino, com baixas temperaturas de inverno, significativamente influenciadas pelas altitudes, e a vegetação composta em sua maioria por gramíneas e arbustos (LEITE, 1994). O termo “Ombrófila” é relacionado à pluviosidade, e deve ser estendido indistintamente ao campo (estepe) e à floresta mista, porque ambas fisionomias ocorrem tão indistintamente associadas que se torna inconcebível diferenciá-las climaticamente (OLIVEIRA, 2001).

#### 4.1 MANEJO DO SOLO

Considerando que a agricultura sustentável, nas condições brasileiras de solo e clima, depende consideravelmente da ciclagem de nutrientes, inclusive das fontes orgânicas, é possível inferir que a criação de condições favoráveis à comunidade microbiana e a sua atividade seja de fundamental importância para a sustentabilidade dos sistemas de produção (ANDREOLA; FERNANDES, 2007).

As práticas de manejo e conservação do solo e da água devem ser planejadas e executadas procurando-se manter ou mesmo melhorar seus atributos, de modo a aumentar a capacidade do solo em sustentar uma produtividade biológica competitiva (SINGH; PANDEY, 2011; ARAÚJO; GOEDERT; LACERDA, 2007). A rotação de culturas, adubação orgânica, cultivo de coberturas, ciclagem de resíduos de culturas, a restauração da fertilidade, manutenção da qualidade do solo e o controle biológico de doenças de plantas são práticas que visam otimizar o uso do solo e aumentar a sustentabilidade do sistema de produção. Se o solo for manejado adequadamente, comunidades microbianas podem se beneficiar significativamente das práticas agrícolas, de modo a tornar mais ativa a ciclagem do carbono e nutrientes. O manejo adequado do solo é ferramenta fundamental para a segurança alimentar e para a redução da pobreza, principalmente nos países em desenvolvimento (SINGH; PANDEY, 2011). Desse modo, o uso de práticas agrícolas que permitam a cobertura vegetal do solo, a manutenção de restos vegetais na superfície, a adubação orgânica e a rotação de culturas, incluindo nesse contexto o sistema de plantio direto, em relação a plantio convencional, pode resultar na melhoria da produtividade associada a melhor qualidade ambiental e sustentabilidade (ANDREOLA; FERNANDES, 2007).

Para que o sistema de produção agrícola seja menos agressivo ao ambiente é necessário que todos os seus fatores, sejam eles bióticos ou abióticos, bem como as suas interações, sejam considerados (ANDREOLA; FERNANDES, 2007). O entendimento das interações, especialmente aquelas que envolvam a microbiota do solo e o desenvolvimento de tecnologias que possam avaliar o seu funcionamento, constituem em um dos grandes desafios da pesquisa na área agrônômica (SILVEIRA; FREITAS, 2007).

## 4.2 FÓSFORO

O fósforo (P) é um macronutriente essencial, necessário à maioria dos processos metabólicos, que não pode ser substituído por nenhum outro nutriente nos sistemas biológicos (FRANZ et al., 2011). A ciclagem do P no solo é menos eficiente que a do N e do C, pois sofre reações de fixação com argilas e óxidos de ferro e alumínio que o torna indisponível (RHEINHEIMER; ANGHINONI, 2001). Assim, os fertilizantes minerais, especialmente fosfatos, são essenciais para

o aumento ou manutenção da produtividade agrícola (CORRÊA et al., 2005). As plantas absorvem somente o P encontrado na solução do solo, necessitando assim de suprimento contínuo de P (SILVA; VAN RAIJ, 1999).

Em solos altamente intemperizados, predominam as formas inorgânicas de P, ligadas à fração mineral com alta energia, e as formas orgânicas estabilizadas física e quimicamente (RHEINHEIMER; ANGHINONI, 2001). O aumento do intemperismo provoca mudanças em algumas propriedades do solo, tornando-o mais eletropositivo e com maior capacidade de adsorver ânions como o fosfato (TIRLONI et al., 2009). Isto sugere que os teores de P total e a sua distribuição nas diferentes frações dependem do grau de intemperização, das características químicas e físicas do solo, da atividade biológica e da vegetação predominante, entre outras, pois ambos os processos, geoquímico e biológico, transformam os fosfatos naturais do solo em formas orgânicas e inorgânicas estáveis (RHEINHEIMER; ANGHINONI, 2001).

Os fertilizantes fosfatados, de modo geral, apresentam baixa eficiência de utilização pelas culturas (CORRÊA et al., 2005). Sua fixação ou retenção tanto pela superfície de minerais, como pela sua precipitação na forma de compostos de baixa solubilidade com outros elementos da solução do solo, levam à necessidade de adubações com doses do nutriente maiores do que é exportado pela cultura. Cerca de 80% dos fertilizantes fosfatados adicionados aos solos são consumidos pela fixação de P em constituintes mineralógicos, sendo os efeitos da fixação mais pronunciados em solos mais ácidos. Entretanto, o recobrimento dos colóides do solo pela matéria orgânica atenua a adsorção de P, pois os ácidos orgânicos competem com o ânion fosfato pelos sítios ativos dos colóides (TIRLONI et al., 2009; LAPIDO-LOUREIRO; MELAMED, 2006).

Maior disponibilidade de P para as plantas pode ser obtida mediante o manejo da adubação fosfatada, com ênfase na fonte utilizada e no modo de aplicação mais adequado para solos com diferentes capacidades de adsorção do elemento (CORRÊA et al., 2005). No sistema plantio direto, como o solo não é revolvido, os fertilizantes fosfatados permanecem na camada superficial do solo, facilitando a saturação dos sítios de adsorção e permitindo que o P adicionado permaneça por maior período na forma lábil (LAPIDO-LOUREIRO; MELAMED, 2006).

A apatita [ $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F},\text{Cl},\text{OH})$ ] é a forma mais comum em que o P ocorre na crosta da Terra. No entanto, cerca de 300 minerais contendo fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) foram descritos (PAYATAN, MC LAUGHLIN, 2007), sendo a fluorapatita o principal componente de fosfatos naturais, como os de Jacupiranga, Catalão, Araxá e Tapira no Brasil, e do Tennessee, nos EUA (GOMES et al., 2010).

O uso de rochas moídas na agricultura não acidifica nem saliniza o solo, promove o aumento do pH, proporciona a liberação lenta e gradual de nutrientes, apresentando maior efeito residual que os fertilizantes solúveis, diminuindo a fixação e a lixiviação (ALVES, 2006). Apesar do potencial da “rochagem”, a baixa solubilidade do P requer o desenvolvimento de processos que proporcionem maior liberação e aproveitamento dos nutrientes. Dentre esses processos, destaca-se o uso de microrganismos do solo capazes de promover maior absorção de nutrientes quando associados às plantas, como os fungos micorrízicos (OLIVEIRA; ROSSI; TARGHETTA, 2008).

#### 4.3 CALCÁRIO

Com a ampliação da fronteira agrícola, áreas de campo natural de baixa fertilidade foram incorporadas ao sistema produtivo (KAMINSKI, 2005). Os solos de regiões tropicais e subtropicais são normalmente ácidos e apresentam altos teores de Al trocável (CIOTTA et al., 2004). O P é um dos nutrientes mais influenciados pela acidez do solo, dada a sua baixa mobilidade no solo (ERNANI et al., 2000). A translocação de P das raízes para a parte aérea é prejudicada pelo Al e Fe pela formação de compostos insolúveis no sistema radicular (MC CORMICK; BORDEN, 1974), em ambientes muito ácidos. A calagem tem sido intensivamente utilizada pelos produtores porque diminui a disponibilidade de Al trocável e Mn pelo aumento do pH do solo, o que resulta no aumento do rendimento da maioria das culturas (ERNANI et al., 2000).

A solubilidade do Al diminui com o aumento pH do solo, e quando o pH atinge valores superiores a 5,4-5,5, o  $\text{Al}^{3+}$  precipita completamente e deixa de prejudicar as plantas (ERNANI et al., 2000). A aplicação de calcário promove melhorias no ambiente químico do solo não só pela elevação do pH, mas também pelo aumento dos teores de Ca e Mg trocáveis, da saturação por bases (CIOTTA et

al., 2004). A calagem aumenta rapidamente os valores de pH, Ca, Mg e CTC efetiva na camada na qual o calcário é incorporado, favorecendo o crescimento de raízes, que por sua vez, influencia nos estoques de matéria orgânica do solo (CIOTTA et al., 2004).

Com a adoção do sistema de plantio direto, várrias áreas agrícolas passaram a receber calagem superficial como forma de correção da acidez do solo (KAMINSKI, 2005). A aração e gradagem realizados no plantio convencional aumenta a aeração, aumentando mineralização da matéria orgânica, além de aumentar também a lixiviação de nutrientes e a desagregação do solo. Por outro lado, no cultivo em plantio direto, os produtores normalmente evitam a mobilização do solo com vistas a preservar as características físicas desejáveis, como a continuidade de macroporos, agregação, proteção física da matéria orgânica, em adição à eliminação de custos adicionais com arações e gradagens (CIOTTA et al., 2004). Nesses casos, o calcário é aplicado sobre a superfície do solo, sem incorporação. A reação do calcário, entretanto, é geralmente limitada ao local de sua aplicação no solo. A calagem não tem um efeito rápido na redução da acidez do subsolo, que depende da lixiviação de bases (CAIRES et al., 2003), atuando como uma frente alcalinizante que avança no perfil do solo (KAMINSKI, 2005).

De todo modo, a calagem superficial tem propiciado melhorias no ambiente radicular e, ressalvadas as situações de impedimento físico por compactação ou selamento de poros, propicia alterações de atributos químicos em profundidade, comparáveis à calagem incorporada pelo revolvimento do solo, especialmente em solos menos argilosos e com menor acidez potencial (CAIRES et al., 1998).

A não incorporação do calcário diminui a superfície de contato entre as partículas de solo e as do calcário, retardando os efeitos da calagem e restringindo as reações aos centímetros superficiais (CASSOL, 1995). Por outro lado, em plantio direto, a acidificação é mais intensa na superfície do solo (CIOTTA et al., 2004), pois além de a lixiviação de bases para as camadas mais profundas ser mais intensa (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), as raízes das plantas em plantio direto tendem a se concentrar próximas à superfície do solo, levando ao maior esgotamento de bases trocáveis. Sendo assim, a aplicação superficial de calcário, ao promover a formação de uma frente de alcalinização descendente a partir da superfície, minimiza a acidificação onde esta é mais intensa (AMARAL, 1998).

A formação e a migração lenta de  $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$  e  $\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$  para camadas mais profundas, percolados pelo movimento descendente da água, podem explicar o efeito benéfico da calagem superficial sobre o desenvolvimento das plantas (CAIRES et al., 2000). Em experimento realizado por Ciotta et al. (2004), a aplicação de calcário na superfície do solo e sem incorporação foi eficiente na elevação do pH, na camada de 0-15 cm e na diminuição da saturação de Al trocável na camada de 0-20 cm, não diferindo do tratamento com incorporação com aração e duas gradagens. Frente a esses benefícios da calagem superficial, essa pode ser uma estratégia mais sustentável de correção da acidez de solos de baixa fertilidade incorporados aos sistemas de produção de grãos.

#### 4.4 TRANSFORMAÇÕES BIOLÓGICAS DE P

Os principais estoques de P estão na solução do solo, rios, lagos e oceanos, bem como em rochas e sedimentos oceânicos. O ciclo do P pode ser descrito como sedimentar, devido à tendência geral de o mineral ser transportado da terra para os oceanos, onde por fim torna-se incorporado aos sedimentos (TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2006). Parte dos fosfatos naturais utilizados comercialmente tem origem em sedimentos marinhos, sendo provenientes dos Estados Unidos, sudeste do México, Marrocos e Noroeste do Saara e Oriente Médio (SOUZA; FONSECA, 2009).

O ciclo de suprimento do P inicia-se nos fosfatos naturais, dos quais a apatita é a principal fonte, passa para o solo por solubilização, de onde é absorvido pelas plantas, e entra na biomassa animal pela alimentação dos herbívoros e onívoros (LAPIDO-LOUREIRO; MELAMED, 2006). Um átomo de P, liberado da rocha por desagregação química, pode entrar em uma comunidade terrestre e nela ser ciclado por anos, décadas ou séculos, antes de ser transportado, carregado juntamente com o solo e via água subterrânea, para um curso d'água (TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2006).

As plantas assimilam o P na forma de íons de fosfato ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) do solo ou da água, e o incorpora diretamente em seus vários compostos orgânicos. Os animais eliminam o excesso de P em suas dietas, excretando íons de fosfato na urina; as bactérias mineralizadoras também convertem o fósforo dos

detritos orgânicos em íons fosfato. O fósforo não entra na atmosfera sob qualquer forma que não seja poeira, por isso circula pouco entre a atmosfera e os outros compartimentos dos ecossistemas (RICKLEFS, 2008).

Normalmente só pequenas quantidades de P estão presentes na solução do solo, que é alimentada continuamente pela sua liberação a partir dos minerais do solo e da matéria orgânica, mas de forma muito lenta para suprir a demanda de uma agricultura intensiva. A exportação de nutrientes que ocorre na agricultura a cada colheita retira parte deste nutriente do sistema, por isso é necessário compensar a perda de fósforo e outros nutrientes com adubações (LAPIDO-LOUREIRO; MELAMED, 2006).

O melhor aproveitamento deste nutriente pode ser realizado pela diversificação de culturas, seja via rotação, ou pelo plantio de culturas consorciadas, como citado por Giacomini et al. (2003), em que o consórcio de aveia+ervilhaca proporcionou maior acúmulo de P nos resíduos vegetais do que o cultivo isolado destas culturas.

No entanto, para que a produtividade seja mantida por longo prazo em solos de baixa fertilidade, o aporte de fertilizantes é necessário. Além do aspecto econômico, também se faz necessário que o insumo agrícola atenda a outros objetivos como a conservação da biodiversidade e da fertilidade do solo (STAMFORD et al., 2008).

A complexidade do manejo de P nos solos tropicais está relacionada à fixação de P pelos óxidos e hidróxidos de Fe e Al, tornando esse elemento indisponível para as plantas (LAPIDO-LOUREIRO; MELAMED, 2006).

Sabendo-se que o P é absorvido pelas raízes na forma de ortofosfato, e que o fósforo da matéria orgânica e dos minerais só se torna disponível quando os microrganismos do solo a mineralizam ou solubilizam, respectivamente (POTAFOS, 1996), o manejo da comunidade microbiana constitui em uma alternativa para a melhoria do suprimento de fósforo para as plantas (SILVA-FILHO; VIDOR, 2000).

A produção de ácidos por microrganismos é considerada o principal mecanismo de solubilização de minerais. Ácidos inorgânicos, como o  $H_2CO_3$ , formado a partir do  $CO_2$  liberado pela respiração microbiana, são responsáveis pela solubilização de compostos contendo P e K (OLIVEIRA; ROSSI; TARGHETTA, 2008). Entretanto, existem diferenças na capacidade e no potencial de solubilização

de P pelos microrganismos. Enquanto alguns podem solubilizar apenas Ca-P, outros ainda solubilizam Al-P e Fe-P, devendo-se levar em consideração que os microrganismos podem solubilizar esses fosfatos em diferentes intensidades (SILVA-FILHO; VIDOR, 2000).

A acidificação também pode resultar do efluxo de íons  $H^+$  pelos microrganismos, como forma de manutenção do equilíbrio iônico devido ao consumo de prótons, o que pode solubilizar P pela dissolução de compostos como apatitas. Ácidos orgânicos, como o succínico, o fumárico, o oxálico e o cítrico são excretados por microrganismos do solo, como os fungos ectomicorrízicos e são responsáveis pela solubilização de fontes insolúveis (OLIVEIRA; ROSSI; TARGHETTA, 2008).

Bactérias, fungos e actinobactérias envolvidos nos processos de solubilização do P inorgânico excretam ácidos orgânicos que atuam dissolvendo diretamente o material fosfático ou quelando os cátions que acompanham o ânion fosfato (KUCEY, 1983). A comunidade de microrganismos solubilizadores de fosfato e sua capacidade de solubilização estão intimamente relacionadas ao tipo e ao manejo do solo (PAUL; CLARK, 1996).

A inoculação destes microrganismos capazes de solubilizar fosfatos do solo têm apresentado resultados favoráveis (YOUNG, 1990). No entanto, o uso extensivo da inoculação destes microrganismos carece de mais pesquisas, principalmente em solos tropicais (BARROTI; NAHAS, 2000)

Outros compostos responsáveis pela liberação de nutrientes são os sideróforos, substâncias quelantes produzidas por muitas espécies de fungos micorrízicos. Os sideróforos são eficientes na dissolução de minerais (OLIVEIRA; ROSSI; TARGHETTA, 2008), podendo atuar na complexação do Fe e liberação do fosfato que a ele esteja complexado. Sendo assim, os microrganismos do solo desempenham papel fundamental no ciclo biogeoquímico do P e na sua disponibilidade para as plantas, mediante o fluxo de P pela biomassa microbiana, a solubilização do P inorgânico, a mineralização do P orgânico e a associação entre plantas e fungos micorrízicos (CARNEIRO et al., 2006).

O P imobilizado na biomassa microbiana pode ser liberado pela ruptura das células microbianas, funcionando como uma proteção desse nutriente, diminuindo sua fixação aos minerais do solo e aumentando a eficiência da adubação fosfatada pela imobilização de parte do P do fertilizante na biomassa (CARNEIRO et al., 2004). Dessa forma, o conteúdo e o fluxo de P por meio da biomassa microbiana

podem atingir valores equivalentes ou, às vezes, superiores à absorção desse nutriente pelas plantas (BROOKES et al., 1984). Além disso, a quantidade de fósforo estocado na biomassa microbiana do solo (BMS) pode ser aumentada pela adição de fertilizantes (LUKITO et al., 1998). No entanto, o processo de imobilização é temporário e o P microbiano, devido à alta labilidade, é fonte de P inorgânico às plantas assim que as células sofrem mineralização. Assim, os processos biológicos podem auxiliar na sustentabilidade dos sistemas agrícolas, contribuindo para a nutrição vegetal em longo prazo (MARTINAZZO et al., 2007).

#### 4.5 PLANTIO DIRETO

Com a alteração da base econômica da região de Ponta Grossa de pecuária para a agricultura mecanizada, a qual foi incrementada a partir de tecnologias introduzidas pelos imigrantes europeus, acentuaram-se sobremaneira os impactos ambientais na região (OLIVEIRA, 2001). Após o uso da mecanização, surgiram problemas de erosão dos solos, concomitante a um incremento acentuado na utilização de corretivos e fertilizantes industriais empregados para viabilizar a utilização dos solos originalmente ácidos e pobres em nutrientes necessários para o desenvolvimento dos cultivos (OLIVEIRA, 2001).

A adoção do sistema de semeadura direta é indicada como uma das alternativas para o surgimento de sistemas agrícolas sustentáveis, embasado nos princípios de menor revolvimento do solo e no aporte contínuo de material orgânico na sua superfície por meio dos restos culturais (SOUSA NETO et al., 2008).

No sistema de plantio direto (SPD), a proliferação das raízes na camada superficial do solo é frequentemente maior do que nas culturas implantadas em sistema convencional, favorecendo a biomassa microbiana (ANDREOLA; FERNANDES, 2007). O solo no sistema de plantio direto apresenta biomassa microbiana em níveis intermediários entre a encontrada em solo de mata nativa e solo sob cultivo convencional (SILVA et al., 2007).

A densidade global do solo é o principal atributo físico alterado quando se migra do sistema convencional para o sistema de plantio direto (DORAN, 1980). Isso decorre principalmente do tráfego das máquinas na superfície do solo, que resulta em um aumento da densidade como resultado da diminuição de macroporos e aumento de microporos. Em virtude disso, pode aumentar a

comunidade de microrganismos anaeróbios, de forma a resultar em um maior acúmulo de matéria orgânica, porque em condições anaeróbias sua decomposição é mais lenta e incompleta (ANDREOLA; FERNANDES, 2007). Assim, a manutenção dos restos culturais na superfície, aliada às práticas de conservação do solo, enriquecem-no com matéria orgânica e reduzem os impactos negativos que possam advir do manejo intensivo e sucessivo (SILVA; VAN RAIJ, 1999).

#### 4.6 ROTAÇÃO DE CULTURAS

Monoculturas cultivadas repetidas vezes na mesma área, levam ao esgotamento da vitalidade do solo, à depreciação da qualidade das águas subterrâneas e à perda de organismos benéficos, tornando as plantas cultivadas vulneráveis a parasitas e patógenos (SINGH; PANDEY, 2011).

A adubação verde é uma prática de cultivo em que ocorre a incorporação ou manutenção de plantas produzidas no local ou adicionadas, com a finalidade de preservar e ou restaurar os teores de matéria orgânica e nutrientes (BUZINARO, 2006). Os resíduos vegetais são a base para a formação da matéria orgânica (húmus) do solo, sendo composta por C, H, O, N, P, S, Ca, Mg, K, etc., que formam macromoléculas como proteínas, ácidos nucleicos, celulose, hemicelulose, amido, pectina, lignina e lipídios (DE-POLLI; PIMENTEL, 2005).

A cobertura morta (palhada) geralmente aumenta a atividade microbiana e enzimática no solo, pois supre substratos prontamente disponíveis para os microrganismos e suas enzimas (BUZINARO, 2006).

O uso combinado de fertilizantes minerais e adubação verde é uma prática importante de manejo de entressafra, por meio da qual se procura imobilizar temporariamente os nutrientes na biomassa do adubo verde e preservar sua manutenção nos agroecossistemas, o que geralmente resulta em maior eficiência no uso de nutrientes e aumento na produtividade agrícola (ARF et al., 1999).

Durante muito tempo, a adubação verde foi empregada como sinônimo de incorporação de nitrogênio ao sistema via uso exclusivo de leguminosas. Atualmente também se recomenda o uso de gramíneas, principalmente quando se almejam melhorias no manejo de nutrientes e formação

de palhada para aumentar a eficiência do sistema de plantio direto (BUZINARO, 2006).

O paradigma central para o manejo biológico da fertilidade do solo é utilizar práticas de uso e manejo que favoreçam comunidades microbianas e processos, de tal forma que conduzam a efeitos benéficos para aumentar a capacidade produtiva do solo (SINGH; PANDEY, 2011).

#### 4.7 INDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO

Um indicador é algo que aponta, indica, podendo ser uma propriedade, processo ou característica física, química ou biológica que pode ser medida para monitorar mudanças no solo. Um indicador do tipo ecológico pode ser uma espécie ou grupo de seres vivos que, pela sua presença ou ausência em determinada área, indicam a existência de uma condição ambiental (MELLONI, 2007). O uso de indicadores é importante para identificar problemas em áreas de produção, monitorar mudanças na qualidade do solo relacionadas ao manejo, e dar assistência na formulação de políticas de uso da terra (ALEF, 1995). Indicador microbiológico pode ser definido como uma espécie de microrganismo, grupo de micro-organismos, ou processos por eles intermediados que indicam, pela sua presença e atividade numa determinada área, a existência de uma condição ambiental específica (MELLONI, 2007).

Um conjunto mínimo de indicadores, englobando atributos físicos, químicos e biológicos deve ser utilizado para se avaliar a qualidade do solo, uma vez que nenhum indicador individualmente irá descrever e quantificar todos os aspectos da qualidade do solo (DORAN; PARKIN, 1994), já que a funcionalidade e sustentabilidade dos diversos sistemas são governadas pela interação destes atributos (MELLONI, 2007).

Um sistema de produção agrícola é considerado sustentável se atende a dois requisitos: conserva os recursos naturais e satisfaz as necessidades do produtor (SANTANA; MATTOSO; CRUZ, 2002). A conservação dos recursos naturais implica em manutenção da qualidade do solo, pois está relacionada à atividade microbiana, representada por reações biológicas e bioquímicas catalisadas pelos microrganismos (FORTES NETO; FERNANDES; JAHNEL, 2007).

A qualidade do solo tem profunda influência na saúde e na produtividade de um ecossistema. No entanto, diferentemente do ar ou da água, para os quais existem padrões de qualidade, a definição e a quantificação da qualidade do solo são de difícil acesso, principalmente pela forte dependência de fatores externos como manejo, interações com o ecossistema e ambiente, prioridades sócio-econômicas e políticas, etc. (MELLONI, 2007).

A qualidade do solo é essencial não apenas para a produção agrícola, mas também para a qualidade da água e do ar, enfatizando o papel do solo para a produção e a qualidade ambiental. Segundo Karlen et al. (1997), a qualidade do solo reflete a sua capacidade para uma função, dentro dos limites naturais ou de ecossistemas manejados, para sustentar a produtividade de plantas e animais, manutenção ou melhoria da qualidade da água e do ar. Utilizando indicadores de qualidade do solo, é possível identificar se o manejo atual está contribuindo para melhor ou para pior em termos de sustentabilidade do sistema de produção (SANTANA; MATTOSO; CRUZ, 2002).

Um bom indicador deve mensurar uma ou mais funções do solo; ser suficientemente sensível para refletir mudanças devido a distúrbios, restauração ou manejo; fornecer referência, valores críticos ou limiares; ser facilmente interpretáveis e ser fácil e pouco dispendioso de se obter (GIL-SOTRES et al., 2005), além de funcionar igualmente bem em diversos ambientes (SCHLOTER; DILLY; MUNCH, 2003). Em uma primeira consideração, a qualidade máxima do solo seria encontrada em um ambiente em equilíbrio, ou seja, um solo sob uma vegetação clímax. Uma segunda opinião considera o solo com máxima qualidade aquele capaz de manter alta produtividade causando o mínimo de distorção ambiental (GIL-SOTRES et al., 2005).

Para praticar uma agricultura sustentável se requer uma visão mais ampla do sistema de produção. O enfoque sistêmico permite ver mais claramente as consequências que as práticas têm sobre o ambiente e as comunidades humanas. O enfoque sistêmico dá as ferramentas necessárias para explorar as interações entre a agricultura e o ecossistema natural (SANTANA; MATTOSO; CRUZ, 2002). Utilizar a microbiologia como ferramenta para avaliar qualidade do solo é fundamental para melhor compreender a sustentabilidade ambiental e agrícola (SILVEIRA; FREITAS, 2007), pois os microrganismos têm íntima relação com as propriedades químicas e físicas do solo e também porque são responsáveis por

vários processos biológicos e bioquímicos (FORTES NETO; FERNANDES; JAHNEL, 2007).

Para avaliar a qualidade do solo nos diversos sistemas, podem ser utilizados atributos físicos, químicos e biológicos. Até cerca de dez anos atrás, os maiores enfoques eram dados aos dois primeiros, subestimando-se o papel da biota do solo em várias funções do solo (DORAN; PARKIN, 1996; MELLONI, 2007). Entre os principais indicadores físicos de qualidade de solo sob o ponto de vista agrícola, estão a textura, estrutura, resistência à penetração, profundidade de enraizamento, capacidade de água disponível, percolação de água ou permeabilidade (GOMES; FILIZOLA, 2006). Os fatores químicos incluem pH, excesso ou limitação de nutrientes, anaerobiose, salinidade e biocidas como metais pesados, poluentes radioativos, agrotóxicos e hidrocarbonetos. Fatores relativos a estresse biológico incluem, entre outros, introdução de organismos exógenos com alta competitividade e crescimento descontrolado de patógenos ou predadores. Raramente um fator opera de modo isolado, ou seja, um estresse físico, por exemplo, pode alterar condições químicas e biológicas, e estas afetarem direta ou indiretamente a microbiota e a qualidade do solo (MELLONI, 2007).

O monitoramento de bioindicadores pode orientar o planejamento e auxiliar na avaliação das práticas agrícolas para a sustentabilidade ambiental (MENDES; REIS JUNIOR, 2010). Entretanto, a escolha de indicadores para serem utilizados em áreas degradadas não é fácil e exige muito estudo, dedicação e paciência (MELLONI, 2007).

A contagem de microrganismos do solo em meios de cultura definidos e posterior estudo de suas características é talvez o método mais comum de se avaliar a diversidade microbiana do solo. Entretanto, a diversidade dos isolados depende muito do método utilizado no isolamento e do meio de cultura, visto que uma parcela muito pequena dos microrganismos do solo pode se desenvolver em meios de cultura (SORHEIM; TORSVIK; GOKSOYR, 1989). Torsvik; Goksoyr; Daae (1990) demonstraram que 99,5 a 99,9% das bactérias do solo não são cultiváveis nos meios de cultivo tradicionais, mostrando a grande limitação deste método.

Dentre alguns dos indicadores microbiológicos de qualidade do solo destacam-se: biomassa microbiana, respiração basal e quociente metabólico (DE-POLLI; PIMENTEL, 2005). Entretanto, vários outros métodos são atualmente

utilizados para se avaliar a qualidade do solo, como atividade enzimática, diversidade genética e diversidade funcional.

Mudanças na atividade dos microrganismos podem ser um indicativo de mudanças na qualidade do solo. Deste modo, populações de microrganismos-chave como os fungos micorrízicos e, ou, processos bioquímicos mediados pela microbiota são bioindicadores sensíveis de mudanças na qualidade do solo (MELLONI, 2007).

Nos ecossistemas tropicais, onde o N e o P estão entre os principais fatores limitantes para a produtividade, também merecem destaque os processos de fixação biológica do nitrogênio, as relações simbióticas entre plantas e fungos micorrízicos, a ação dos microrganismos solubilizadores de P e produtores de fosfatases (MENDES; REIS JUNIOR; 2004).

O primeiro problema é que limites rigorosamente individuais das propriedades bioquímicas como indicadores da qualidade do solo, mesmo em solos com alta qualidade, como solos clímax, apresentam alta variabilidade devido ao clima, estação do ano, localização geográfica e fatores pedológicos, o que também dificulta a comparação de valores obtidos em um experimento com outro (GIL-SOTRES et al., 2005). No entanto, com os valores médios obtidos por meio de vários indicadores, podem ser estabelecidos limites inferiores e superiores da qualidade do solo ou das condições físicas, químicas e biológicas consideradas adequadas (MELLONI, 2007).

#### 4.8 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO

Em termos globais, a matéria orgânica do solo contém três vezes mais carbono do que a atmosfera ou a vegetação terrestre (SCHMIDT et al., 2011). A matéria orgânica tem papel fundamental na fertilidade do solo, especialmente nos solos tropicais e subtropicais altamente intemperizados. Ela melhora química, física e biologicamente o solo, proporcionando maior atividade biológica, fertilidade e conseqüentemente a capacidade de suportar os cultivos (KER, 1997). Nos trópicos, a sustentabilidade de um sistema agrícola está baseada no aporte de material orgânico que nele permanece e é continuamente reciclado. Portanto, a contínua reposição de material orgânico ao solo e sua humificação são fundamentais para

que seus benefícios ao sistema de produção sejam mantidos (DE-POLLI; PIMENTEL, 2005). A matéria orgânica é importante fonte de nutrientes e energia para muitos organismos, além de possibilitar benefícios como melhor estruturação do solo e capacidade de armazenamento de água, processos fundamentais para o desenvolvimento das culturas agrícolas e manutenção da biota do solo (KER, 1997). Os microrganismos do solo atuam nos processos de ciclagem da matéria orgânica, participando diretamente no ciclo biogeoquímico do carbono e nutrientes e, conseqüentemente, mediando a sua disponibilidade no solo (BALOTA et al., 1998).

A persistência do carbono orgânico no solo não ocorre devido a propriedades intrínsecas da matéria orgânica, mas devido a propriedades do ecossistema (SCHIMDT, 2011). Como de 95% a 99% da matéria orgânica do solo é constituída por frações não vivas, relativamente estáveis e resistentes a alterações, mudanças significativas nessas frações podem levar anos para serem detectadas. Por outro lado, alterações significativas na biomassa microbiana podem ser detectadas com maior antecedência quando comparadas a mudanças na matéria orgânica porque a biomassa é a fração mais dinâmica do C orgânico do solo (DE-POLLI; PIMENTEL, 2005).

#### 4.9 BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO

A biomassa microbiana do solo (BMS) é a parte viva da matéria orgânica, incluindo bactérias, actinobactérias, fungos, protozoários, algas e microfauna (DE-POLLI; PIMENTEL, 2005). Contém de 2 a 5% do carbono orgânico, de 1 a 5 % do nitrogênio orgânico e de 2 a 20% do fósforo orgânico nos solos tropicais (D'ANDRÉA et al., 2002), além de intermediarem muitas transformações destes nutrientes (DICK, 1992). Há uma estreita relação entre a matéria orgânica e a biota do solo. Entretanto, como o solo é normalmente um ambiente estressante, limitado por nutrientes, somente 15% a 30% das bactérias e 10% dos fungos encontram-se em estado ativo (ANDREOLA; FERNANDES, 2007).

Os microrganismos são responsáveis pelos processos de mineralização de formas orgânicas, mas também representam um estoque considerável de nutrientes potencialmente disponíveis para as plantas (MENDES; REIS JUNIOR, 2004). Em condições ideais, a microbiota do solo permite que os

nutrientes sejam gradualmente liberados para a nutrição das plantas, diminuindo perdas por lixiviação, como no caso do nitrogênio, ou fixação, como no caso do fósforo. A diminuição da biomassa microbiana do solo prejudica a imobilização temporária dos nutrientes, incrementando suas perdas e resultando no empobrecimento do solo (HUNGRIA et al., 1997). Como a biomassa dos microrganismos é ciclada cerca de 10 vezes mais rapidamente do que a matéria orgânica, tem-se que a quantidade de nutrientes presentes nas células dos microrganismos representa uma fração importante da ciclagem de nutrientes nos ecossistemas terrestres (ANDREOLA; FERNANDES, 2007).

A BMS pode ser usada como indicadora de perturbações no solo (SILVA; SIQUEIRA; COSTA, 2004), visto que práticas de uso e manejo do solo afetam qualitativa e quantitativamente (DE-POLLI; PIMENTEL, 2005). O uso inadequado do solo, aliado a práticas não conservacionistas, permite que o carbono estocado na forma de matéria orgânica e microbiana, como também na forma de biomassa vegetal, seja remobilizado para a atmosfera (DE-POLLI; PIMENTEL, 2005).

O solo é, em última análise, um dreno de carbono, pois o CO<sub>2</sub> fixado via fotossíntese pode ser nele estocado na forma de húmus ou na biomassa de organismos ou em seus resíduos, podendo resistir mais fortemente à biodegradação (KER, 1997). De maneira geral, os microrganismos estão envolvidos em vários processos de grande interesse agrônomico. Dentre os processos destacam-se: a) decomposição e ressíntese da matéria orgânica, b) ciclagem de nutrientes, c) as transformações bioquímicas específicas (nitrificação, desnitrificação, oxidação e redução do enxofre), d) fixação biológica do nitrogênio, e) a ação antagônica a patógenos, f) produção de substâncias promotoras ou inibidoras de crescimento, entre outros (ANDREOLA; FERNANDES, 2007).

Segundo Gil-Sotres et al. (2005) em uma revisão sobre bioindicadores de qualidade do solo, 40% dos artigos apresentam um parâmetro microbiológico-bioquímico generalista como o C da biomassa microbiana, atividade de desidrogenase, respiração do solo, capacidade de mineralização de nitrogênio, hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) ou conteúdo de ATP para avaliar a qualidade do solo. O remanescente considera parâmetros bioquímicos específicos como a atividade de urease ou fosfatase.

Vegetações nativas conseguem se auto-sustentar em solos com baixa disponibilidade natural de fósforo. Nesses sistemas, o P disponível é controlado pela ciclagem de P orgânico (Po), tendo a biomassa microbiana como componente essencial (CONTE; ANGHINONI; RHEINHEIMER, 2002). Quando os solos são cultivados, diminuem os teores de matéria orgânica e de fósforo orgânico pela alteração na dinâmica de entrada de resíduos orgânicos no solo, mas também pela mobilização e arejamento do solo, com conseqüente aumento da atividade microbiana que acelera a mineralização da MOS (MAGID et al., 1996). Nesse sentido, a BMS é importante porque se trata do compartimento responsável pela transformação da matéria orgânica e pela ciclagem de nutrientes (DE-POLLI; GUERRA, 1999). Logo, sua flutuação em tamanho e atividade influenciará a disponibilidade de nutrientes às plantas cultivadas, inclusive o P (MARTINAZZO et al., 2007). A imobilização do P pela BMS é temporária, diminuindo ao longo do desenvolvimento das culturas (MARTINAZZO et al., 2007). Entretanto, a contribuição no suprimento de P às plantas proveniente da mineralização da MOS e da BMS é insuficiente para elevados níveis de rendimento das culturas comerciais, havendo necessidade de adições de fertilizantes fosfatados visando ao aumento da produtividade (CONTE; ANGHINONI; RHEINHEIMER, 2002).

Percebe-se que adição de fertilizantes fosfatados aos solos tem resultado em aumento nos teores de P armazenados na biomassa microbiana (CONTE; ANGHINONI; RHEINHEIMER, 2002). Em solos sob plantio direto, ocorre maior atividade de fosfatases em relação a solos sob preparo convencional (DORAN, 1980), porém, quando se adicionam fertilizantes fosfatados solúveis, a alta disponibilidade de fósforo inorgânico pode inibir a atividade de fosfatases. Mesmo assim, no sistema de plantio direto, a biomassa microbiana poderá imobilizar temporariamente o P adicionado, mantendo-o numa forma mais lábil às plantas (MARTINAZZO et al., 2007).

#### 4.10 RESPIRAÇÃO DO SOLO

A respirometria é um método que determina a quantidade de carbono liberado na forma de CO<sub>2</sub>, resultante da decomposição da matéria orgânica pela comunidade microbiana quimiorganotrófica aeróbia do solo. Permite quantificar

o carbono que está sendo mineralizado e também verificar se as condições climáticas, o manejo do solo e a presença de substâncias poluentes estão comprometendo a atividade microbiana (FORTES NETO; FERNANDES; JAHNEL, 2007).

A respirometria basal do solo (RB) possui uma estreita relação com as condições abióticas do solo, entre elas a umidade, temperatura e aeração, fatores diretamente relacionados com a atividade microbiana. Cattelan e Vidor (1990) concluíram que, além da influência dessas características, a disponibilidade e o tipo de substrato no solo estão diretamente relacionados à RB.

#### 4.11 QUOCIENTE METABÓLICO - $qCO_2$

A interpretação dos resultados da atividade biológica do solo deve ser feita com critério, uma vez que elevados valores de respiração nem sempre indicam condições desejáveis: 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; DORAN; FRANCO-VIZCAINO, 1996).

Anderson & Domsch (1993) propuseram o quociente metabólico,  $qCO_2$ , que é a relação entre a quantidade de C- $CO_2$  produzida por unidade de C da biomassa microbiana, por unidade de tempo, como componente relevante na avaliação dos efeitos ambientais e antropogênicos sobre a atividade microbiana no solo (D'ANDRÉA et al., 2002). O  $qCO_2$  tem sido usado para acessar a eficiência do uso de substratos pelos microrganismos do solo (ANDERSON; DOMSCH, 1989). Para Anderson (1994), ele pode ser utilizado como sensível indicador de estresse quando a BMS é afetada.

O  $qCO_2$  é possivelmente o mais popular dos índices simples (GIL-SOTRES et al., 2005). Os resultados obtidos com  $qCO_2$  têm revelado um índice eficiente na quantificação da eficiência do uso de substrato pelos microrganismos que, aliados aos outros supracitados, poderão fornecer respostas rápidas sobre os impactos proporcionados pelo manejo do solo sobre a comunidade microbiana do solo (DE-POLLI; PIMENTEL, 2005).

#### 4.12 ATIVIDADE DE ENZIMAS

Outro método de se avaliar a qualidade do solo é pelo estudo da diversidade funcional (MELLONI, 2007). As enzimas do solo participam das reações metabólicas extracelulares, responsáveis pelo funcionamento e pela manutenção dos seres vivos e também desempenham papel fundamental atuando como catalizadoras de várias reações que resultam na decomposição de resíduos orgânicos (ligninases, celulases, proteases, glucosidases, galactosidases), ciclagem de nutrientes (fosfatases, amidases, urease, sulfatase), formação da matéria orgânica e da estrutura do solo (MENDES; VIVALDI, 2001). A atividade enzimática de um solo é o resultado do somatório da atividade enzimática dos organismos vivos (plantas, microrganismos e animais) e das enzimas abiômicas que estão associadas a partículas de argila e matéria orgânica e por isso se mantêm protegidas da ação de proteases, embora ao custo de perda parcial de sua atividade, pois o sítio catalítico ficará menos disponível (MENDES, 2010). Vários tipos de imobilização e proteção das enzimas que podem ocorrer no solo são: adsorção, enredamento, microencapsulamento, troca iônica, ligação cruzada, adsorção e ligação cruzada simultâneas, copolimerização e ligação covalente (MOREIRA, SIQUEIRA, 2006).

Algumas enzimas, como a desidrogenase, são encontradas apenas em células viáveis, mas a maioria das enzimas do solo são exoenzimas secretadas por microrganismos ou são provenientes de detritos microbianos ou vegetais que são estabilizadas em complexos de minerais de argila e colóides húmicos (DICK, 1992).

A atividade enzimática do solo exerce importante papel na sustentabilidade e funcionalidade do ecossistema, pois é fundamental para catalisar reações necessárias para a manutenção da atividade microbiana, decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes e formação de matéria orgânica do solo (MELLONI, 2007). Como as enzimas estão presentes em baixas concentrações no solo, sua avaliação é feita indiretamente pela medida da sua atividade, e não pela sua quantidade (SILVEIRA, 2007; FORTES NETO; FERNANDES; JAHNEL, 2007). Como esses ensaios são realizados sob condições ideais de pH, temperatura e disponibilidade de substrato, representam a atividade potencial máxima e não a atividade enzimática real do solo (ALEF; NANNIPIERRI, 1995).

#### 4.12.1 Enzimas Relacionadas à Atividade Metabólica Geral

Dentre as diversas enzimas do solo, a medida da atividade da desidrogenase (DHA) é bastante utilizada, pois reflete a capacidade oxidativa da microbiota do solo (DICK; TABATABAI, 1993). Representa a atividade microbiana de uma maneira generalista, pois é considerada como um indicador do sistema redox microbiano (GIL-SOTRES et al., 2005). São enzimas intracelulares, encontradas nas membranas das células vivas, fazendo parte da cadeia respiratória que possui o O<sub>2</sub> comoceptor final de elétrons. Elas oxidam compostos orgânicos pela transferência de um par de elétrons para umceptor, NAD ou NADP, formando o NADH ou NADPH (BUZINARO, 2006).

Da mesma forma, a hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) representa a atividade microbiana geral e é realizada por várias enzimas (lipases, proteases e esterases) presentes nos microrganismos e também é usada para avaliar a atividade microbiana do solo (SILVA; SIQUEIRA; COSTA, 2004).

#### 4.12.2 Enzimas Envolvidas em Ciclos Biogeoquímicos

Algumas enzimas têm merecido destaque na pesquisa como bioindicadores da qualidade do solo, sendo geralmente relacionadas à ciclagem de nutrientes como nitrogênio, fósforo e enxofre, além do carbono. Dentre as enzimas envolvidas no ciclo do carbono destacam-se a celulase e a  $\beta$ -glucosidase; no ciclo do nitrogênio a glutaminase; no ciclo do fósforo as fosfatases ácida e alcalina; e no ciclo do enxofre a arilsulfatase.

A celulase catalisa a degradação da celulose e a determinação de sua atividade é baseada nos açúcares redutores liberados após a incubação de amostras de solo com carboximetil celulose (CMC), substrato da enzima, por 24 h a 50 °C (SHINNER; VON MERSE, 1990). A celulose é o polímero natural mais abundante na biosfera e o principal constituinte das biomassas vegetais, correspondendo entre um terço e metade do tecido das plantas. Responde, isoladamente, por aproximadamente 40% de toda reserva de carbono disponível na

biosfera. Está presente em todas as plantas, desde árvores altamente desenvolvidas até em organismos mais primitivos, e seu conteúdo nestas espécies varia de 20 a 99% (SANTOS, 2011).

A  $\beta$ -glucosidase catalisa a hidrólise de  $\beta$ -D-glucopiranosídeos, possui ampla distribuição em fungos e plantas (EIVAZI; TABATABAI, 1988). Gera produtos de hidrólise que são importantes fontes de energia para os microrganismos do solo. É inativada a 70 °C e sua atividade está correlacionada positivamente com o conteúdo de carbono orgânico do solo. A  $\beta$ -glucosidase é um bom indicador da qualidade do solo, e é negativamente afetada por algumas práticas agrícolas, sendo menor em solos agrícolas do que em florestas, ou campos nativos (GIL-SOTRES et al., 2005).

De acordo com Dick e Tabatabai (1993), os microrganismos são as fontes mais expressivas de fosfatases no solo, por causa da sua grande biomassa, alta atividade metabólica e curto tempo de vida, com várias gerações por ano, permitindo a produção e a liberação de quantidades elevadas de enzimas extracelulares em comparação com as plantas. Dentre as hidrolases, a atividade de fosfatase ácida tem sido usada com bastante frequência para estimar mudanças na qualidade do solo devido tanto ao manejo quanto à presença de contaminantes (GIL-SOTRES et al., 2005). Segundo Schaffer (1993), a atividade da fosfatase decresce na presença de chumbo e outros metais pesados e temporariamente na presença de pesticidas no solo. Entretanto, de acordo com Conte, Anghinoni e Rheinheimer (2002), a atividade da fosfatase ácida não foi influenciada pela adição de fosfato ao solo no sistema plantio direto.

A glutaminase catalisa a hidrólise de L-glutamina, produzindo ácido L-glutâmico e  $\text{NH}_3$ , participando efetivamente da amonificação. É encontrada no solo, e é amplamente distribuída na natureza, detectada em diversos animais, plantas e microrganismos (FRANKENBERGER; TABATABAI, 1991).

A arilsulfatase é uma enzima que participa do ciclo do S no solo, ao hidrolisar ligações orgânicas do tipo ésteres sulfato, o que libera íons sulfato (TABATABAI; BREMNER, 1970). Acredita-se que esta enzima seja a responsável pela ciclagem do enxofre no solo por meio dos processos de mineralização da matéria orgânica (AL-KHAFAJI; TABATABAI, 1979; DAVID; MITCHELL; NAKAS, 1982). A atividade da arilsulfatase no solo decresce com a profundidade e com a diminuição do teor de matéria orgânica (BALIGAR et al., 1988), por constituir a

principal reserva de ésteres de sulfato, que são substratos da enzima (NOGUEIRA; MELO, 2003).

#### 4.13 MICORRIZAS

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são simbioses biotróficas obrigatórias que vivem associados às raízes da maioria das plantas terrestres, afetando positivamente seu crescimento e nutrição (SCHLOTTER; DILLY, MUNCH, 2003). Os FMA formam uma relação caracterizada pela penetração do micélio fúngico inter e intracelularmente às raízes, sem causar nelas modificações morfológicas. O resultado da colonização é a ampliação da interface de conexão solo-planta promovida pelas hifas formadas externamente às raízes, após o estabelecimento da simbiose. O principal benefício desta associação é a ocorrência de alterações metabólicas diversas, com reflexos positivos sobre o desenvolvimento e estado nutricional das plantas (COLOZZI-FILHO; NOGUEIRA, 2007).

Os FMAs são particularmente importantes em condições edáficas estressantes, como solos ácidos e distróficos, como a maior parte dos solos das regiões tropicais. A baixa disponibilidade de nutrientes, aliada à baixa mobilidade de nutrientes importantes como P, Cu e Zn, fazem da micorrização uma condição imprescindível ao desenvolvimento vegetal nesses solos (SILVEIRA, 1998).

Qualquer perturbação no solo em um ecossistema natural, desde um simples cultivo até um processo de degradação erosiva, poderá modificar a dominância de uma espécie fúngica na formação da micorriza, pois à medida em que a severidade da perturbação do ecossistema aumenta, a diversidade de plantas e FMAs diminui (SILVEIRA, 1998). Em solo submetido à erosão simulada, por exemplo, houve uma queda de 35% na colonização radicular e no número de esporos (SILVA et al., 1992). Deste modo, o manejo agrícola pode atuar como força de seleção das populações de FMAs. Como se sabe, monocultura e sistema intensivo de manejo reduzem drasticamente a quantidade de esporos e a diversidade de FMAs (SILVEIRA, 1998). A distribuição e abundância de FMAs também são influenciados pelo pH do solo, o que determina a predominância de certas espécies em condições específicas (SILVEIRA, 1998).

O pH é um dos fatores edáficos de maior importância, principalmente nos solos tropicais distróficos, uma vez que altera a solubilidade do Al, Fe, Mn, Cu e Zn, que em níveis tóxicos podem reduzir a germinação de esporos e o crescimento do tubo germinativo dos esporos de FMA (SILVEIRA, 1998; CARDOSO et al., 2002). Outro aspecto a ser considerado diz respeito à fonte de fosfato, que devido a diferenças na solubilidade, afeta diferencialmente os FMAs. Não se sabe exatamente como o P interfere na colonização das raízes, mas sabe-se que mecanismos genéticos, bioquímicos e fisiológicos estão envolvidos (COOPER, 1984). No entanto, sugere-se que a permeabilidade da membrana do hospedeiro seja influenciada pela disponibilidade de P. Em condições de alto suprimento de P, a biossíntese de fosfolipídeos é favorecida e, por serem integrantes das membranas, quanto maior a absorção de P, menor a sua permeabilidade. Como consequência, tem-se menor quantidade de exsudatos (açúcares e aminoácidos) na rizosfera, o que resulta na baixa germinação, crescimento micelial e, conseqüentemente, menor colonização radicular (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 DESCRIÇÃO DAS ÁREAS E PROCEDIMENTOS DE AMOSTRAGEM

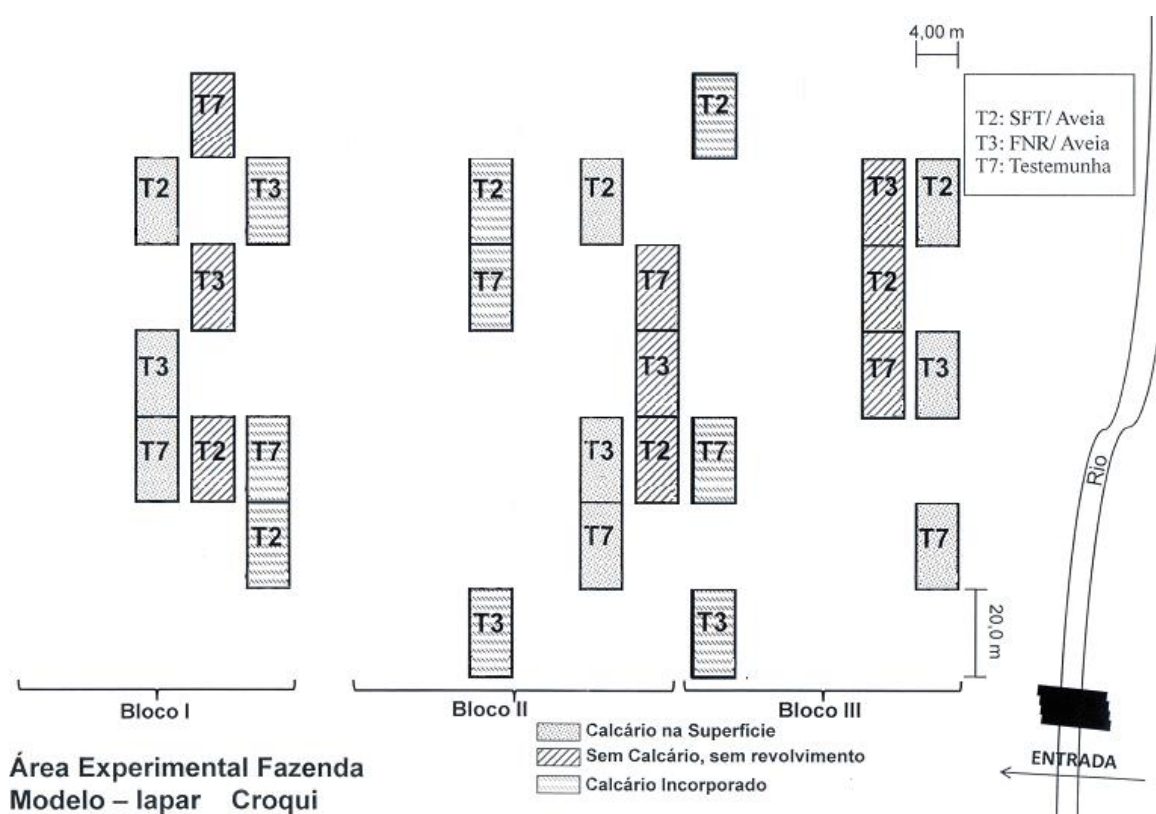
As amostras de solo foram coletadas em experimento conduzido na Estação Experimental da Fazenda Modelo do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), em Ponta Grossa – PR. A região possui pluviosidade média anual de 1554 mm e temperatura média de 17,8 °C. Segundo o Sistema de Monitoramento Agroclimático, Estação Meteorológica de Ponta Grossa (IAPAR, 2012), o clima é considerado temperado úmido de acordo com a classificação de Koeppen (1931).

A área em estudo possuía cobertura vegetal nativa de Estepo Gramino-lenhosa, conhecida como Campos Gerais, e estava sendo utilizada para a pecuária extensiva. A cobertura vegetal foi removida em 2009 para a instalação de culturas agrícolas de grãos em sistema de plantio direto, sendo soja (*Glycine max* L. Merr.) no verão, e aveia preta (*Avena strigosa*) no inverno, sendo este o quarto ciclo aveia-soja realizado na mesma área experimental. O solo da região é classificado como Latossolo Vermelho distrófico, textura média (EMBRAPA, 1999).

A coleta do solo foi realizada em 20 de outubro de 2012, durante o florescimento da aveia-preta, usada para a cobertura do solo no inverno. A aveia-preta foi semeada em junho de 2012, na densidade de 80 kg ha<sup>-1</sup> de sementes e espaçamento de 0,18 m entre as linhas. O delineamento experimental foi disposto em blocos casualizados, em arranjo fatorial 3x3 (3 níveis do fator calagem em combinação com 3 níveis do fator fósforo), em 3 repetições. Foram avaliados tratamentos com variações no fator adubação fosfatada (ausência de adubação, adubação com superfosfato triplo e adubação com fosfato natural reativo) e no fator calagem (ausência de calagem, calcário incorporado e calcário superficial). A dose usada nos tratamentos de adubação fosfatada foi de 100 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, com base no teor total de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> dos fertilizantes e o calcário foi aplicado na dose de 4800 kg ha<sup>-1</sup>, o qual continha 280 g kg<sup>-1</sup> de CaO e 180 g kg<sup>-1</sup> de MgO. Todos os tratamentos receberam adubação potássica, na forma de cloreto de potássio (KCl) em cobertura, na dose de 50 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, logo após a semeadura da aveia preta, e adubação nitrogenada, realizada conjuntamente com a adubação potássica, na forma de sulfato de amônio [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>], em cobertura, na dose de 50 kg ha<sup>-1</sup> de N.

Em cada parcela de 80 m<sup>2</sup> (4 x 20 m), 9 sub-amostras de solo foram coletadas, originando uma amostra composta, obtidas nas profundidades de 0-5 cm, 5-10 cm, 10-20 cm e 20-40 cm de profundidade, sendo as duas primeiras profundidades coletadas com trado de caneca e as outras com trado holandês, totalizando 108 amostras. A distribuição dos tratamentos pode ser visualizada na Figura 1.

As amostras de solo foram homogeneizadas, peneiradas (4 mm) e armazenadas a 4 °C até o momento da realização das análises bioquímicas e microbiológicas. Para análises químicas, as amostras foram secas ao ar em temperatura ambiente, e as análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Solo e Tecidos Vegetais da Embrapa Soja, Londrina-PR.



**Figura 1.** Croqui da área experimental, em que o fator calagem está representado pelas diferentes texturas. Pontilhado: calcário na superfície. Listras horizontais: calcário incorporado. Listras diagonais: sem calcário. O fator fósforo é representado pela letra T seguida de número. T2: superfosfato triplo. T3: fosfato natural reativo. T7: sem adubação fosfatada. (Fonte: E. F. CAIRES, comunicação pessoal).

A respiração basal do solo, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana,  $qCO_2$  e atividade da desidrogenase foram avaliados em todas as profundidades amostradas. Nas amostras da camada 0-5 e 5-10 cm, além das análises acima, também foram avaliadas as atividades das enzimas celulase, FDA,

$\beta$ -glucosidase, glutaminase, arilsulfatase e fosfatase ácida. As análises microbiológicas e bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia de Solos da Embrapa Soja, Londrina-PR.

## 5.2 RESPIRAÇÃO BASAL

A respiração basal (RB) foi avaliada incubando-se 50 g de amostra com umidade ajustada a 50% da capacidade de campo, em frascos hermeticamente fechados, contendo 20 mL de uma solução de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> em béquer para capturar o CO<sub>2</sub> liberado (ALEF, 1995). A análise foi realizada em dois períodos sequenciais de incubação: com seis dias, e mais sete dias de incubação. Após cada incubação o NaOH remanescente foi quantificado pela titulação com HCl na mesma concentração, com auxílio do indicador fenolftaleína. O resultado foi expresso em quantidade de carbono na forma de CO<sub>2</sub> (C-CO<sub>2</sub>) liberado por grama de solo, por dia de incubação.

## 5.3 BIOMASSA MICROBIANA

O carbono da biomassa microbiana (CBM) e o nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) foram extraídas pelo método da fumigação-extração (JENKISON; POWLSON, 1976; VANCE; BROOKES; JENKINSON, 1987).

Foram pesadas duas subamostras de solo de 20 g, com umidade ajustada a 50% da capacidade de campo, sendo que uma foi fumigada com clorofórmio por 24 h e a outra não sofreu fumigação. Ambas subamostras foram submetidas à extração do carbono e nitrogênio com 50 mL de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,5 mol L<sup>-1</sup>) após agitação por 1 h a 160 rpm, e posteriormente centrifugadas por 10 min a 2500 rpm. As quantificações do carbono orgânico total e do nitrogênio total foram realizadas nos extratos em aparelho analisador de carbono orgânico total e nitrogênio (TOC Vario Cube, Elementar, Alemanha). O C e o N da biomassa microbiana foram estimados com base na diferença entre os teores de C e N presentes no extrato da amostra fumigada e da amostra não fumigada, usando como fatores de correção K<sub>C</sub> e K<sub>N</sub> de 0,33 e 0,54, respectivamente (SPARLING;

WEST, 1988; BROOKES et al., 1985).

#### 5.4 DESIDROGENASE

A atividade da desidrogenase foi realizada segundo Casida; Klein; Santoro (1964) para a qual foi utilizada uma solução 1,5% de cloreto de trifênil tetrazólio (TTC) como substrato acceptor de elétrons, na proporção 1:1 (v/m) com a amostra de solo em umidade de campo, sendo que o composto reduzido, trifênil tetrazólio formazana (TTF), apresenta coloração avermelhada. Após incubação a 37 °C por 24 h foi realizada a extração com metanol, e o extrato foi lido em espectrofotômetro a 485 nm. A atividade enzimática foi calculada com o auxílio da curva-padrão construída com TTF e expressa em  $\mu\text{g}$  de TTF  $\text{g}^{-1}$   $\text{dia}^{-1}$ .

#### 5.5 CELULASE

A atividade da celulase foi avaliada pela incubação de 5 g da amostra em 15 mL de tampão acetato pH 5,5 na presença de 15 mL de uma solução de carboximetil celulose (CMC) 0,7%. Os açúcares redutores produzidos pela hidrólise enzimática foram quantificados em espectrofotômetro a 690 nm (SCHINNER; VON MERISI, 1990). A atividade foi calculada com o auxílio de uma reta-padrão de glicose anidra ( $25,45 \text{ mg L}^{-1}$ ) e expressa em  $\mu\text{g}$  de glicose  $\text{g}^{-1}$ .

#### 5.6 FOSFATASE ÁCIDA

A atividade da fosfatase ácida foi avaliada com o uso de uma solução de *p*-nitrofenil fosfato ( $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ) como substrato (TABATABAI; BREMNER, 1969). As amostras (0,25 g de solo) foram incubadas a 37 °C por 30 min em tampão MUB pH 6,5 (2,4 g de Tris hidroximetil aminometano, 2,3 g de ácido maleico, 2,8 g de ácido cítrico em 1,3 g de ácido bórico em 98 mL de NaOH 1 N e completando-se a solução para volume final de 200 mL com água destilada,

ajustando-se o pH e completando-se o volume para 1 L com água destilada) com 1 mL do substrato. Após paralisação da reação com 1 mL  $\text{CaCl}_2$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e 4 mL de  $\text{NaOH}$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , a mistura foi filtrada, e o *p*-nitrofenol foi quantificado pela leitura em espectrofotômetro a 420 nm. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

## 5.7 ARILSULFATASE

A atividade da arilsulfatase foi avaliada de acordo com Tabatabai & Bremner (1970), em que 1 g de amostra recebeu 4 mL de tampão acetato  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 5,8 (68 g de acetado de sódio tri-hidratado, 1,70 mL de ácido acético e diluído a 1 L com água destilada) e 1 mL da solução *p*-nitrofenil sulfato (0,614 g em 50 mL de tampão). Os frascos foram agitados e incubados a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  por 1 h. Depois da incubação, foram adicionados 1 mL de  $\text{CaCl}_2$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e 4 mL de  $\text{NaOH}$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ . Após filtração, a intensidade da cor amarela no extrato foi mensurada em espectrofotômetro a 420 nm. A curva de calibração foi preparada com padrões de 0, 10, 20, 30, 40 e 50 mg de *p*-nitrofenol. Controles foram desenvolvidos para cada amostra para quantificar a cor amarela não derivada da liberação de *p*-nitrofenol pela arilsulfatase. Para desenvolvimento dos controles, seguiu-se o procedimento descrito para o teste da atividade de arilsulfatase, porém o substrato foi adicionado após a adição de 1 mL de  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{CaCl}_2$  e 4 mL de  $\text{NaOH}$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , isto é, imediatamente antes da filtração da suspensão.

## 5.8 $\beta$ -GLUCOSIDASE

A enzima  $\beta$ -Glucosidase catalisa a hidrólise de  $\beta$ -D-glucopiranosídeos. A análise foi realizada segundo Eivazi; Tabatabai (1988). A atividade foi medida em 1 g de amostra, onde foram adicionados 4 mL de MUB pH 6,0 e 1 mL da solução PNG (0,654 g *p*-nitrofenil- $\beta$ -D glicosídeo dissolvidos em em cerca de 40 mL de MUB pH 6,0, com volume ajustado para 50 mL com o tampão), seguido por agitação e incubação a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  por 1 h. O *p*-nitrofenol liberado foi extraído por filtração após a adição de  $\text{CaCl}_2$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e do tampão THAM  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH

12. A intensidade da cor amarela foi mensurada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 420 nm e calculada a quantidade de *p*-nitrofenol liberado, expressa em  $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

## 5.9 GLUTAMINASE

A atividade da enzima glutaminase foi determinada segundo Frankenberger e Tabatabai (1991), em que 1 g de amostra foi colocado em frascos de digestão, ao qual foram adicionados 9 mL de tampão THAM  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; os frascos foram agitados e foi adicionado 1 mL da solução de L-glutamina  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  (1,82 g de L-glutamina dissolvidos a 25 mL com o tampão THAM), seguido por nova agitação. Os tubos foram incubados a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  por 2 h. Após a incubação foram adicionados 40 mL da solução KCl- $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  (0,1 g de sulfato de prata e 188 g de cloreto de potássio dissolvidos em cerca de 700 mL de água e diluídos para 1 L com água destilados), seguido por agitação vigorosa. Para determinar o  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  no extrato resultante, foi pipetada uma alíquota de 20 mL da suspensão em frascos de destilação de 100 mL, adicionado 0,2 g de MgO, seguindo-se destilação a vapor por 4 min, em que o destilado foi recebido em uma solução de ácido bórico + indicadores (verde de bromocresol + vermelho de metila). Para a quantificação foi realizada a titulação com  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,0025 \text{ mol L}^{-1}$ .

## 5.10 HIDRÓLISE DE DIACETATO DE FLOURESCÉINA - FDA

A atividade microbiológica foi também avaliada pelo método de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) descrito por Schuner; Rosswal (1982) e adaptado por Costa (1995). Para tanto, foram utilizados 8 g de amostra e colocados em erlenmeyers com capacidade de 250 mL, nos quais foram adicionados 50 mL de solução tampão fosfato de potássio, pH 7,5 e agitados por 40 min. Em seguida, foi adicionada uma alíquota de 250 mL de solução estoque de FDA nos erlenmeyers, os quais foram agitados durante 60 min a 125 rpm. Foram então retirados 2 mL da suspensão sobrenadante, aos quais foram adicionados 2 mL de acetona para paralisar a reação de hidrólise. A suspensão foi centrifugada por 10 min e, em seguida observou-se a densidade ótica em espectrofotômetro no comprimento de

onda de 490 nm. Foi elaborada uma curva padrão e calculada a quantidade de fluoresceína hidrolisada em 8 g de solo por 60 min (SILVA; SIQUEIRA; COSTA, 2004).

### 5.11 COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA

A avaliação da colonização das raízes por fungos micorrízicos arbusculares foi feita em amostras obtidas da profundidade 0-10 cm, de acordo com Phyllips e Hayman (1970). As raízes de aveia foram separadas e armazenadas em álcool 70%, em refrigeração a 4°C.

As raízes foram lavadas em água corrente e colocadas em um tubo de ensaio, cobertas com KOH 10% e deixadas em estufa a 95 °C por 15 min, para clarificação. Após este procedimento, o KOH foi retirado pela lavagem em água corrente (3 vezes). Foi procedida a acidificação com HCl 1% por 2 minutos e posterior coloração com azul de tripano 0,05%, aquecendo as amostras a 95°C durante 10 min. Após esse procedimento as raízes foram transferidas para placas de Petri quadriculadas, e avaliada a colonização micorrízica pelo método de intersecção de quadrantes com auxílio de microscópio estereoscópico com aumento de até 40X. Foi observada a presença ou ausência de estruturas fúngicas características (hifas, vesículas e/ou arbúsculos) nos pontos de intersecção das raízes com linhas do quadriculo.

### 5.12 ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO

As amostras foram submetidas à análise química para fins de fertilidade, avaliando-se a acidez ativa (pH) em  $\text{CaCl}_2$  0,01 Mol  $\text{L}^{-1}$ , P disponível ( $\text{g kg}^{-1}$ ) em extrator Mehlich I, Acidez trocável (Al), Acidez potencial (Al+H), Ca, K, Mg, soma de bases, e capacidade de troca catiônica (CTC), expressos em  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ , percentagem de saturação de bases (V%), e carbono orgânico total ( $\text{g kg}^{-1}$ ). Todas as análises foram realizadas de acordo com Embrapa, (1997).

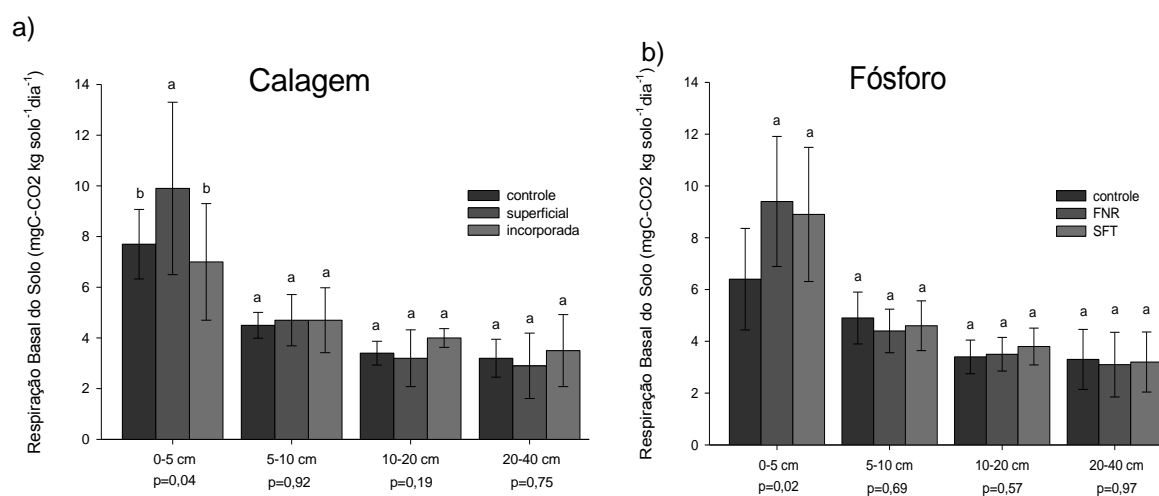
### 5.13. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com auxílio do programa Sisvar, em que foi realizada a análise de variância (Anava) seguida pelo teste *t* LSD a 10%. A análise foi realizada separadamente por profundidade e também foi elaborada uma análise multivariada dos dados por análise de componentes principais (ACP), com auxílio do programa CANOCO, versão 4, objetivando verificar o comportamento das variáveis frente aos tratamentos, bem como as relações entre si, nas profundidades 0-5 cm e 5-10 cm (TER BRAAK; SMILAUER, 1988). Na análise multivariada, os atributos microbiológicos e bioquímicos foram considerados variáveis resposta e os atributos químicos do solo (carbono orgânico total, fósforo, pH e capacidade de troca de cátions) foram inclusos como variáveis explicativas, não influenciando na distribuição dos tratamentos no plano fatorial.

## 6. RESULTADOS

O efeito dos tratamentos adubação fosfatada e calagem sobre as variáveis microbiológicas e bioquímicas foi isolado para a maioria das variáveis, ou seja, ou houve apenas efeito do fator calagem, ou do fator adubação fosfatada, sem interação entre os dois fatores.

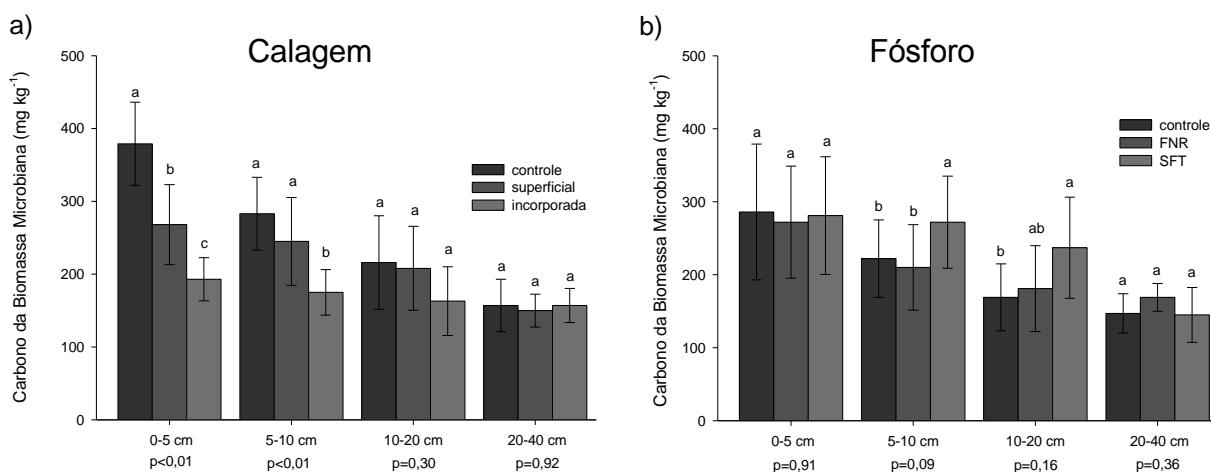
A respiração basal do solo variou com os níveis de calagem e fósforo somente na profundidade de 0-5 cm. A calagem superficial (Figura 2a) foi a que resultou nos maiores valores de respiração basal, sendo significativamente maior do que com calcário incorporado e o controle sem calcário, que não diferiram significativamente entre si. Os tratamentos que receberam fósforo apresentaram respiração basal significativamente maior do que o controle, porém não diferiram entre si (Figura 2b). Nas demais profundidades, não houve efeito dos tratamentos sobre essa variável.



**Figura 2.** Respiração basal (RB), nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .

O carbono da biomassa microbiana diminuiu com calagem nas duas camadas superficiais (Figura 3a), principalmente quando incorporado. A 0-5 cm, o controle diferiu da calagem superficial e esta da calagem incorporada, com o menor valor. Aos 5-10 cm, o controle não diferiu da calagem superficial, mas estas diferiram da calagem incorporada. O fator fósforo influenciou o CBM na profundidade de 5-10

cm, em que a adubação com superfosfato triplo estimulou a biomassa microbiana, semelhantemente ao que ocorreu na profundidade de 10-20 cm (Figura 3b).

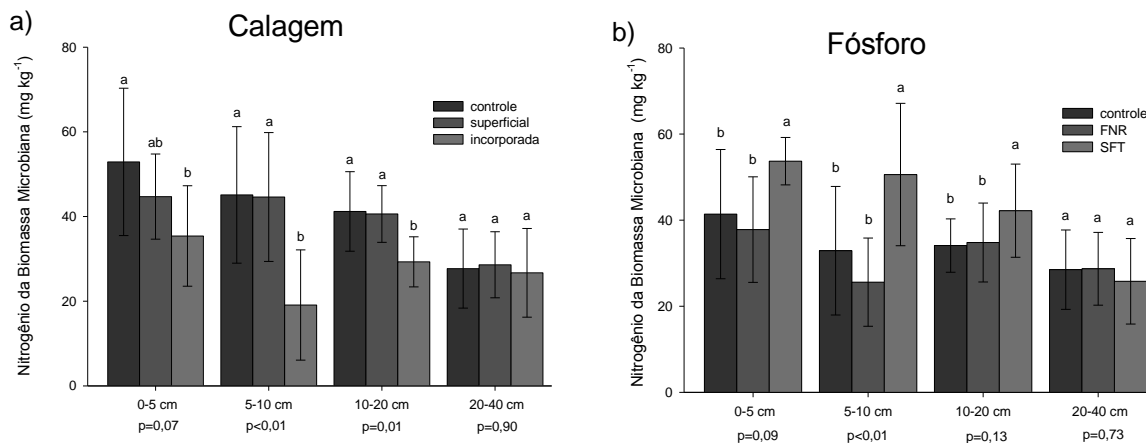


**Figura 3.** Carbono da biomassa microbiana (CBM), nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .

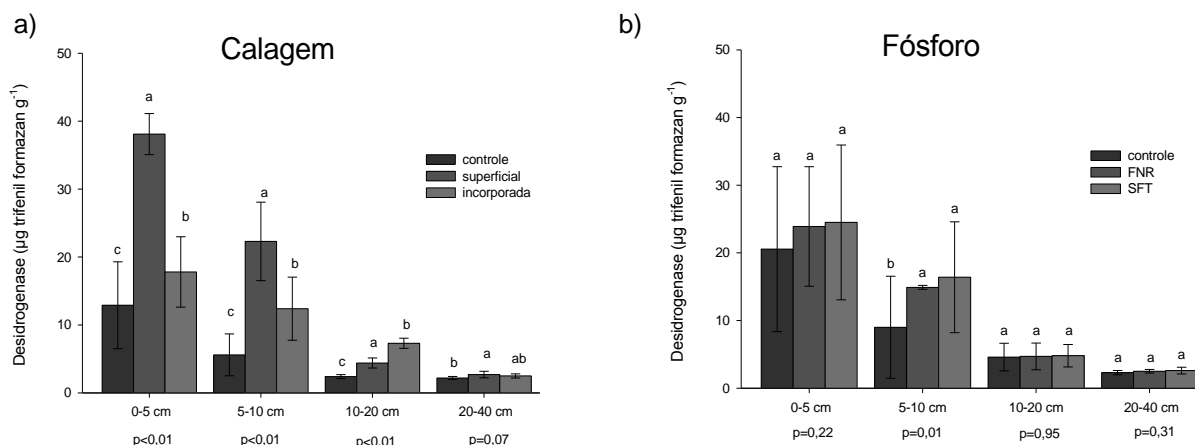
O NBM foi influenciado pela calagem nas três primeiras profundidades e pela adubação fosfatada nas duas primeiras (Figuras 4a e 4b). A incorporação do calcário resultou em diminuição do NBM (Figura 4a). No fator adubação fosfatada, o controle sem fósforo e a adubação com fosfato natural reativo não diferiram entre si e resultaram em menores valores comparados à adubação com superfosfato triplo, que propiciou aumento do NBM (Figura 4b). Esses efeitos se restringiram às três primeiras camadas para o fator calcário e às duas primeiras para o fator adubação fosfatada, não sendo observado efeito a 20-40 cm.

A atividade da enzima desidrogenase foi fortemente afetada pelos níveis do fator calcário (Figura 5a), com diferenças significativas para todas as profundidades. Nas camadas 0-5 e 5-10 cm, o controle sem calcário resultou nas menores atividades da desidrogenase; o fator calagem incorporada resultou em atividades intermediárias; enquanto a calagem superficial resultou nas maiores atividades da enzima. Na profundidade 10-20 cm, a calagem incorporada resultou em maior atividade, seguida pela calagem superficial e o controle sem calagem, com a menor atividade. Na profundidade de 20-40 cm a calagem superficial continuou a promover maior atividade em relação ao controle sem calagem, porém a calagem

incorporada não diferiu significativamente da calagem superficial e do controle sem calagem. As duas fontes de fósforo estimularam a atividade dessa enzima em relação ao controle, porém apenas na profundidade 5-10 cm (Figura 5b).

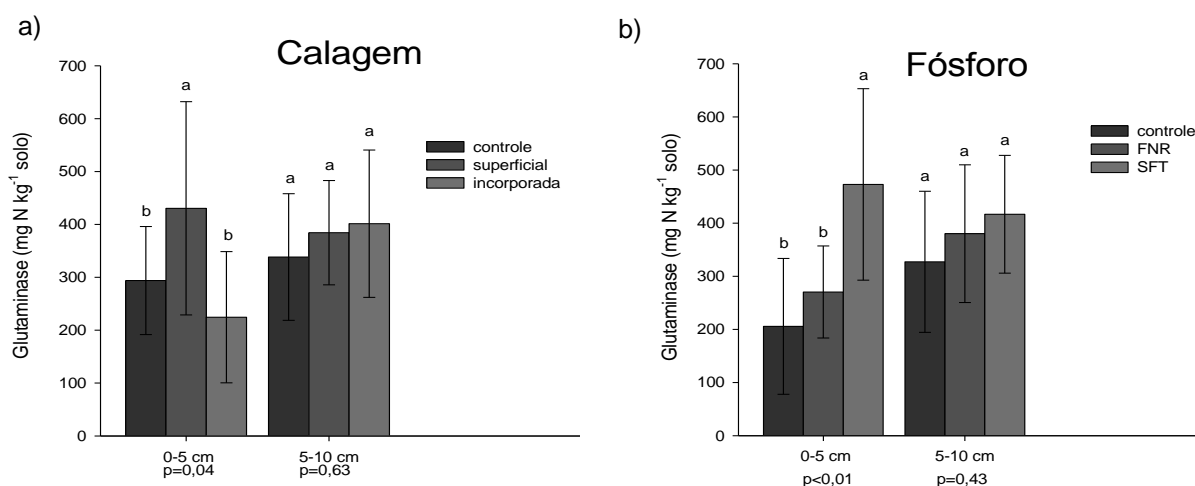


**Figura 4.** Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .



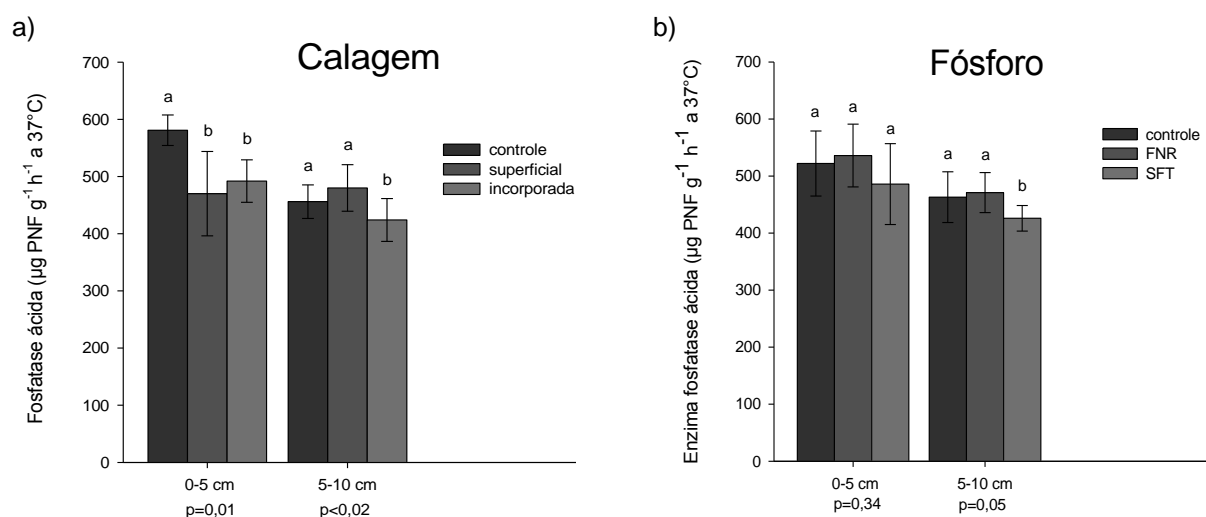
**Figura 5.** Atividade da desidrogenase, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .

A hidrólise de L-glutamina foi influenciada pela calagem e adubação fosfatada apenas na profundidade 0-5 cm (Figuras 6a e 6b). Nessa camada, calagem superficial estimulou a atividade da enzima glutaminase em relação à calagem incorporada e o controle, que não diferiram significativamente entre si (Figura 6a). Ainda nessa profundidade, o tratamento que recebeu adubação com superfosfato triplo promoveu maior atividade em relação ao controle sem fósforo e a adubação com fosfato natural reativo, que não diferiram entre si (Figura 6b).



**Figura 6.** Atividade da L-glutaminase, nas profundidades de 0-5 e 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .

A 0-5 cm, a calagem superficial e a incorporada reduziram a atividade da fosfatase ácida em relação ao controle sem calagem, sem diferirem significativamente entre si (Figura 7a). Na profundidade de 5-10 cm, a incorporação do calcário promoveu ligeira diminuição da atividade em relação ao controle e a calagem superficial. Já a fonte de P solúvel diminuiu levemente a atividade da fosfatase ácida somente na profundidade de 5-10 cm (Figura 7b).

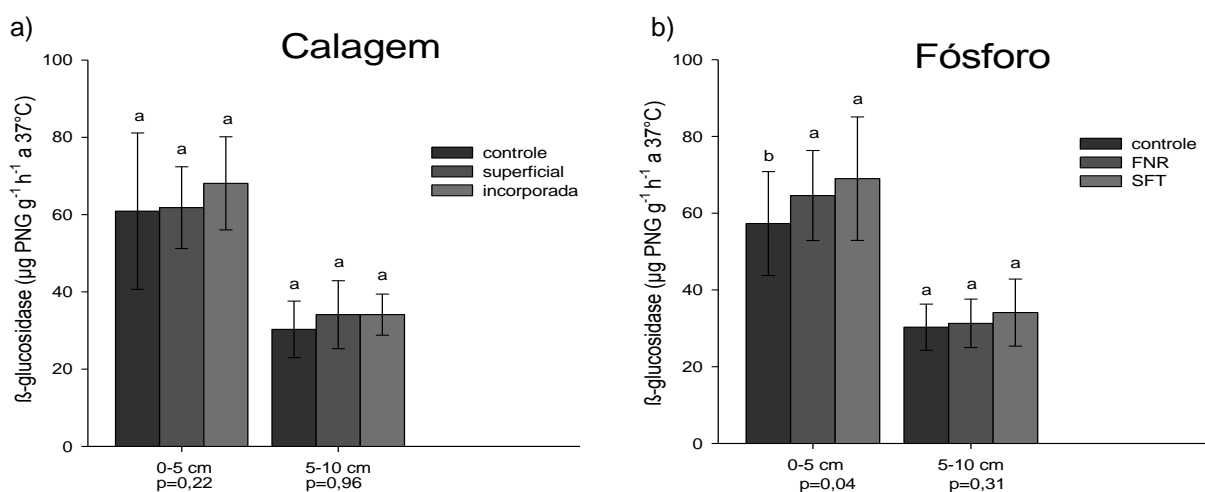


**Figura 7.** Atividade da fosfatase ácida, nas profundidades de 0-5 e 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .

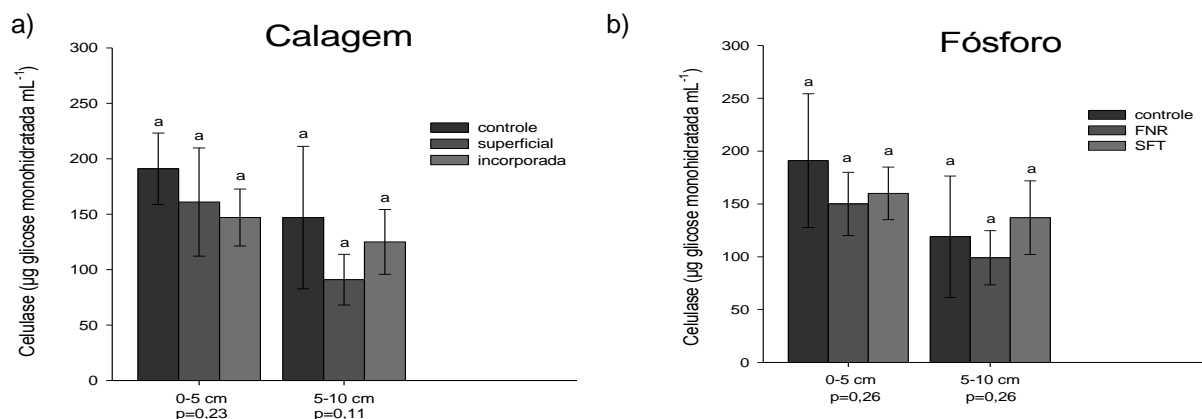
A calagem não influenciou a atividade da enzima  $\beta$ -glucosidase em nenhuma profundidade (Figura 8a). Já a adubação fosfatada com superfosfato triplo e o fosfato natural reativo favoreceram a atividade da enzima em relação ao controle na camada 0-5 cm, porém sem efeito na profundidade 5-10 cm (Figura 8b).

A atividade da celulase não foi influenciada por nenhum dos fatores, em nenhuma profundidade (Figura 9). Apenas observou-se uma maior atividade na camada superficial em relação a 5-10 cm em termos absolutos, já que as profundidades não foram comparadas estatisticamente.

Na camada 0-5 cm, a calagem incorporada diminuiu a atividade da arilsulfatase, enquanto a calagem superficial a estimulou em relação ao controle; na camada 5-10 cm, a calagem superficial não diferiu do controle, mas a incorporação do calcário também diminuiu a atividade (Figura 10a). A adubação fosfatada aumentou a atividade da enzima em relação ao controle, com efeito mais evidente do SFT na camada 0-5 cm. Na camada 5-10 cm, houve aumento da atividade com a adubação fosfatada, mas não houve diferença entre as fontes de P (Figura 10b).

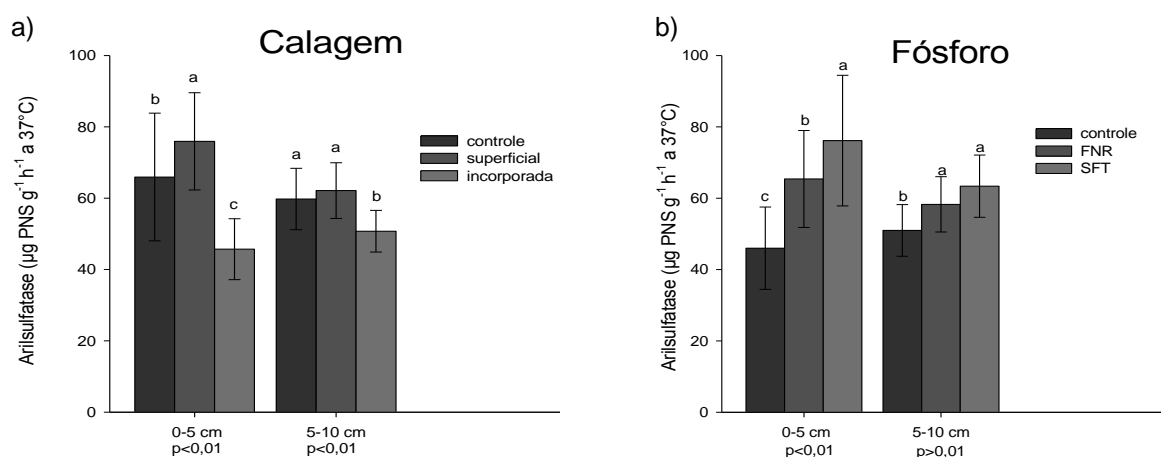


**Figura 8.** Atividade da  $\beta$ -glucosidase, nas profundidades de 0-5 e 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .

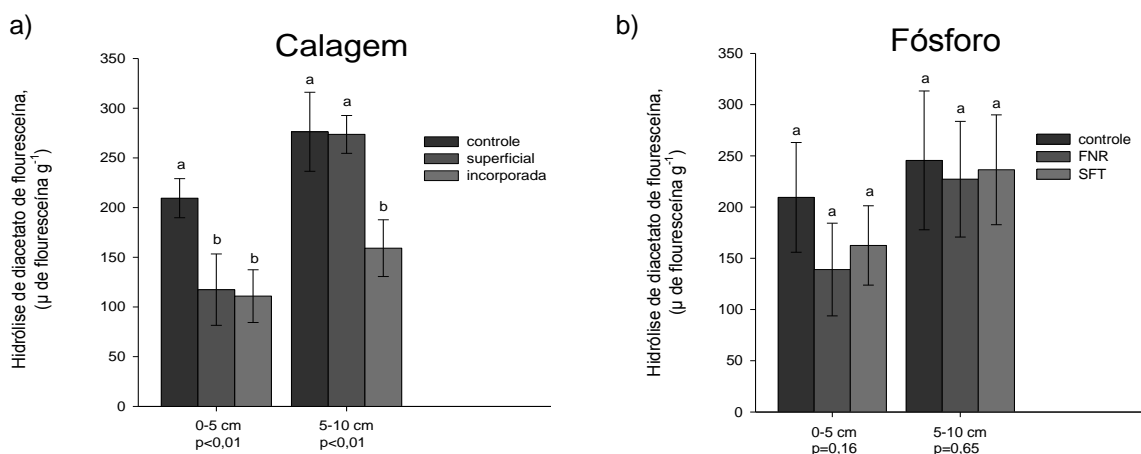


**Figura 9.** Atividade da celulase, nas profundidades de 0-5 e 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .

A calagem reduziu a hidrólise do diacetato de fluoresceína na camada de 0-5 cm, em que o controle apresentou maior atividade do que os tratamentos que receberam calagem, seja superficial ou incorporada, os quais não diferiram entre si (Figura 11a). Na camada de 5-10 cm a calagem incorporada resultou em diminuição da atividade em relação ao controle e a calagem superficial. Os tratamentos com fósforo não afetaram a hidrólise do diacetato de fluoresceína em nenhuma das profundidades (Figura 11b).

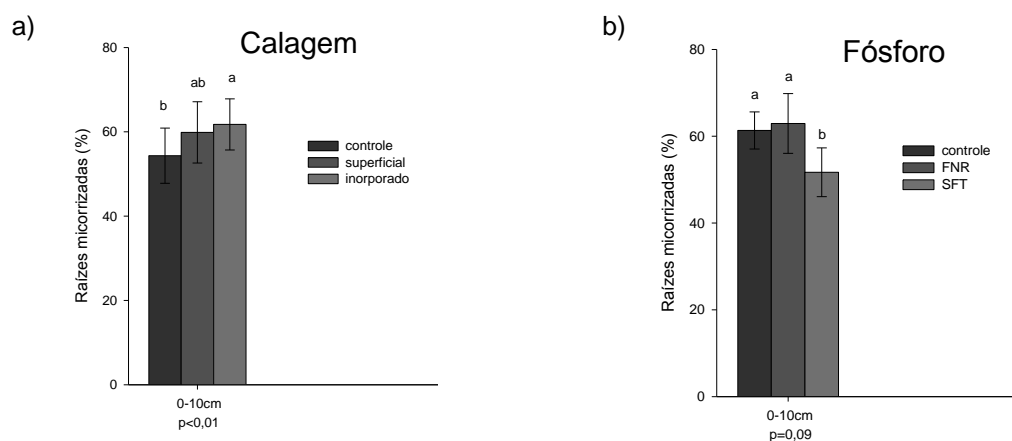


**Figura 10.** Atividade da arilsulfatase, nas profundidades de 0-5 e 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .



**Figura 11.** Atividade de hidrólise de diacetato de fluoresceína, nas profundidades de 0-5 e 5-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .

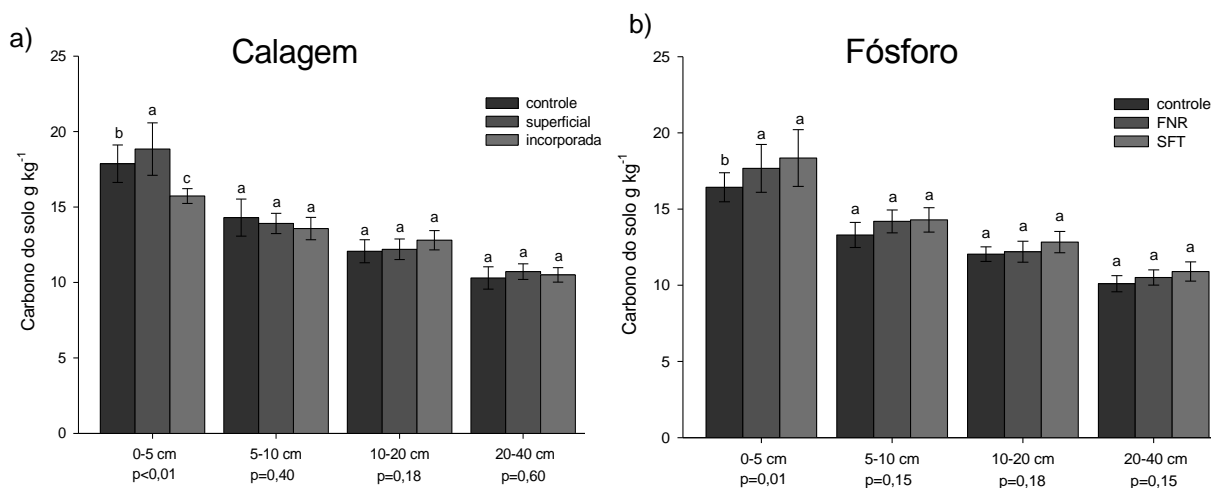
A colonização micorrízica foi influenciada tanto pelo fator calagem, quanto pelo fator fósforo (Figura 12). As raízes das plantas dos tratamentos com calagem incorporada apresentaram maior porcentagem de colonização micorrízica do que as do controle sem calcário, já as dos tratamentos com calagem superficial não diferiram do controle sem calagem nem das que receberam calagem incorporada (Figura 12a). A adubação fosfatada com superfosfato triplo resultou em menor taxa de colonização micorrízica, enquanto que a adubação com o fosfato natural reativo não diferiu do controle, e ambos apresentaram taxas de colonização mais altas do que as plantas que receberam superfosfato triplo (Figura 12b).



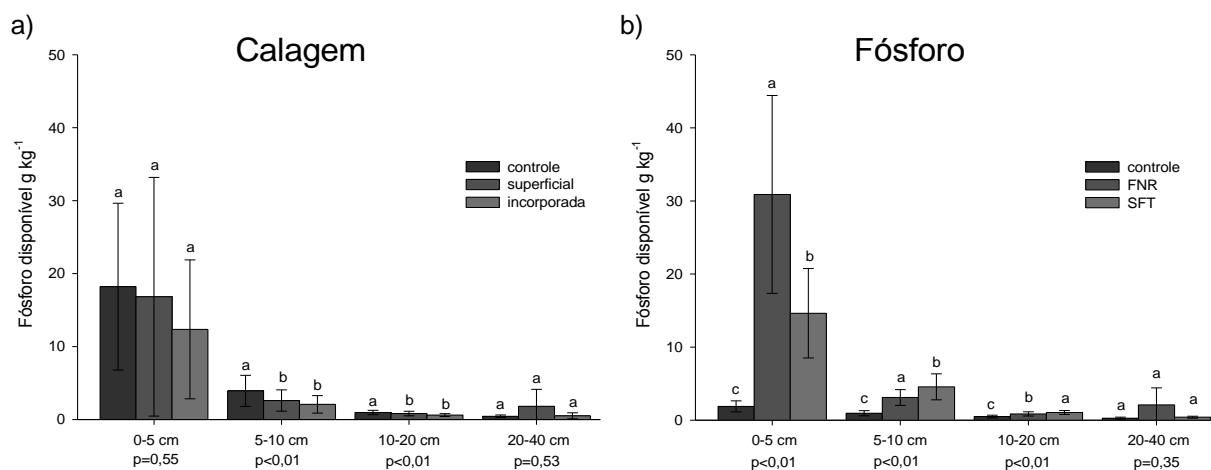
**Figura 12.** Porcentagem de colonização por fungos micorrízicos arbusculares, em raízes obtidas na profundidade de 0-10 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .

A análise química do solo indicou efeito isolado dos tratamentos sobre o carbono orgânico apenas na camada 0-5 cm. A calagem superficial aumentou o teor de carbono, enquanto a calagem incorporada o diminuiu em relação ao controle (Figura 13a). Já a adubação fosfatada aumentou o teor de carbono orgânico no solo em relação ao controle, independentemente da fonte (Figura 13b). Apesar de não ter sido comparado estatisticamente, observou-se uma diminuição do carbono orgânico total com o aumento da profundidade do solo.

Os teores de P disponível no solo foram influenciados pelo fator calagem a 5-10 e 10-20 cm de profundidade (Figura 14a). Houve interação ( $p = 0,03$ ) entre os fatores calagem e fósforo apenas na camada 5-10 cm. Em ambas as profundidades foram observados maiores teores no solo controle do que no solo que recebeu calcário. A adubação fosfatada, como esperado, aumentou a disponibilidade de P nas três primeiras camadas (Figura 14b). Na camada de 0-5 cm, o FNR resultou em maiores valores de P, seguido do SFT e do controle, com o menor teor. Nas camadas 5-10 e 10-20 cm, o tratamento contendo SFT apresentou maiores teores, seguido do tratamento com fosfato natural reativo, e os menores teores no controle.

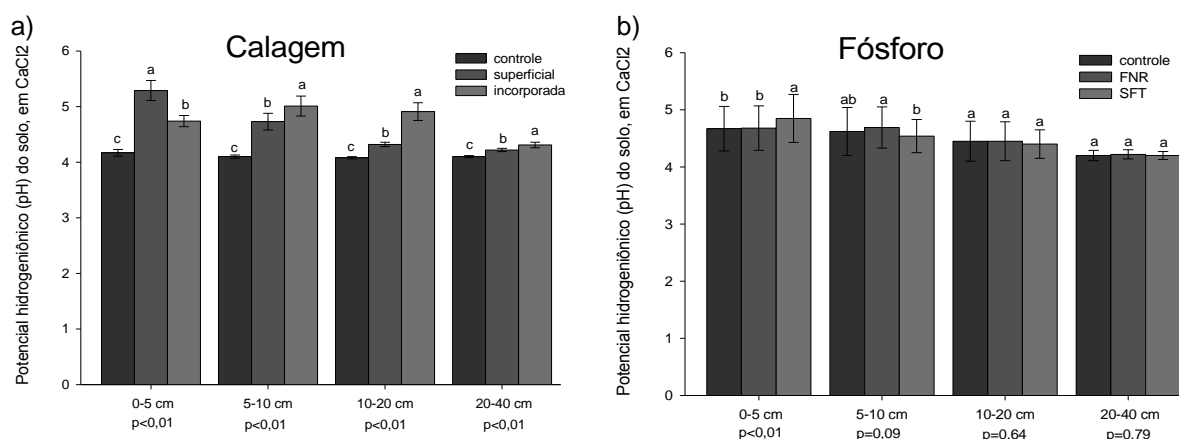


**Figura 13.** Carbono orgânico total, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .



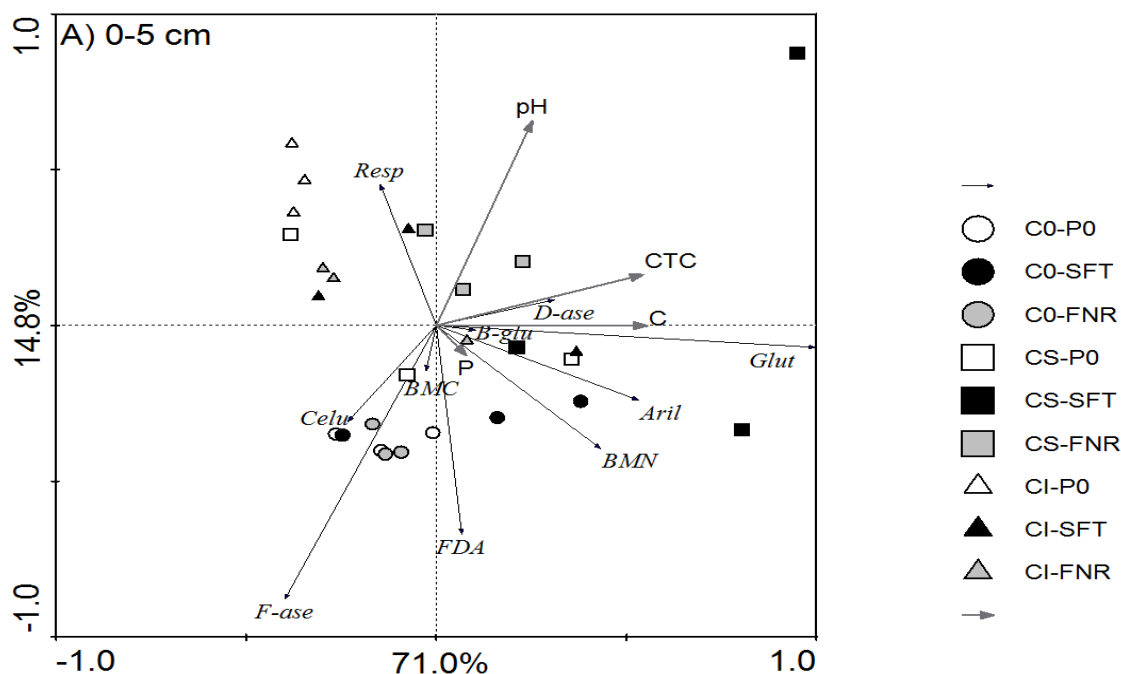
**Figura 14.** Teor de fósforo disponível, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm do solo, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .

A calagem aumentou pH do solo em todas as profundidades, sendo que na camada 0-5 cm, a calagem superficial resultou em maior pH do solo, seguido pela calagem incorporada e o controle (Figura 15a). Nas demais profundidades, a calagem incorporada resultou em maiores valores de pH do que a calagem superficial, esta maior que o controle. Quanto à fonte de P, o SFT resultou em leve aumento do pH a 0-5 cm, enquanto que a 5-10 cm SFR e SFT resultaram no maior e no menor valor de pH, respectivamente (Figura 15b). Os demais dados referentes à análise química do solo são apresentados nos apêndices A-H.



**Figura 15.** pH do solo em  $\text{CaCl}_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, para os efeitos isolados dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) (a) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) (b) e os respectivos valores de  $p > F$ .

A análise de componentes principais para as variáveis avaliadas a 0-5 cm de profundidade mostrou que a componente principal 1 representou 71% da variação dos dados, em que glutaminase, arilsulfatase e N da biomassa microbiana estão muito associadas a essa componente (Figura 16).

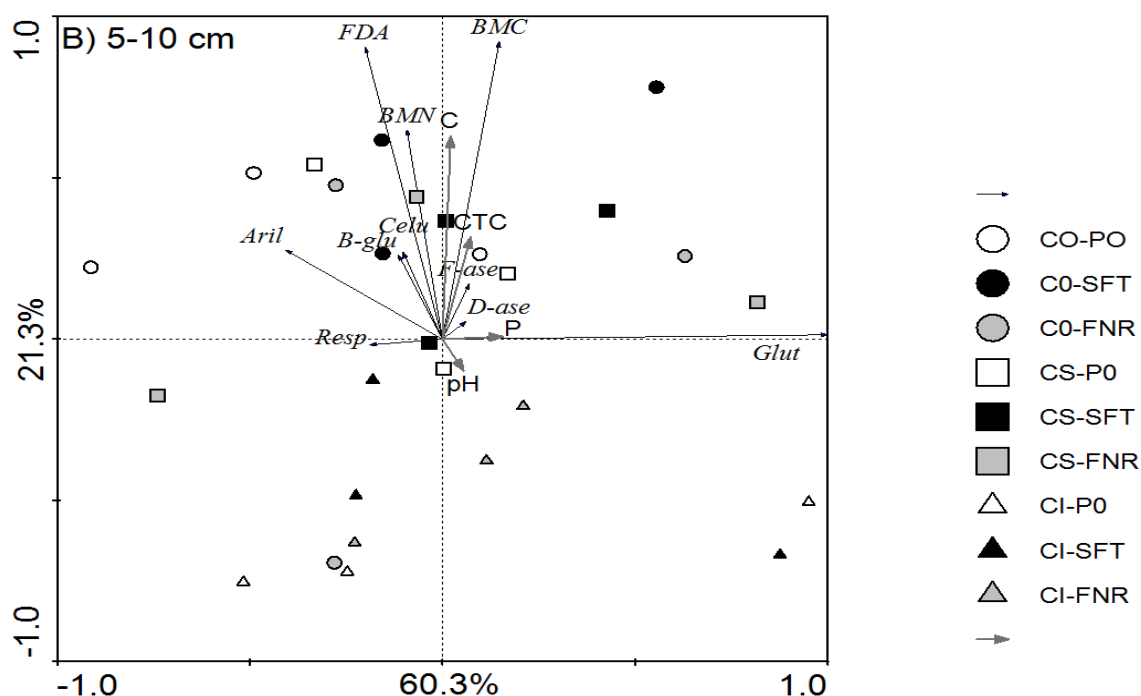


**Figura 16.** Análise de componentes principais com variáveis microbiológicas e bioquímicas obtidas na profundidade de 0-5 cm do solo (*Resp* = respiração basal, *BMC* = carbono da biomassa microbiana, *BMN* = nitrogênio da biomassa microbiana, *Aril* = arilsulfatase, *D-ase* = desidrogenase, *B-glu* =  $\beta$ -glucosidase, *Celu* = celulase, *F-ase* = fosfatase ácida, *FDA* = diacetato de fluoresceína, *Glut* = glutaminase), onde foram plotadas também as variáveis suplementares relativas a atributos químicos do solo (*CTC* = capacidade de troca de cátions, *C* = carbono orgânico do solo, *P* = fósforo disponível e *pH*). C0 = sem calagem, CS = calagem superficial, CI = calagem incorporada, P0 = sem fosfato, SFT = superfosfato triplo, FNR = fosfato natural reativo.

A componente principal 2 representou 14,8% da variação dos dados e as variáveis mais associadas a essa componente foram a respiração basal, hidrólise do diacetato de fluoresceína e atividade da fosfatase ácida. Fica clara uma relação inversa entre atividade de fosfatase ácida e o pH do solo, assim como uma relação direta entre C e CTC com atividade de glutaminase, arilsulfatase e N da biomassa microbiana. O plano fatorial indica uma distinção entre os tratamentos sem calagem (círculos) dos que receberam calagem superficial (quadrados) e calagem incorporada (triângulos) ao longo da componente principal 2. Entretanto, embora menos evidente, os tratamentos sem adubação fosfatada e também os que receberam fosfato natural, principalmente na ausência de calagem, tiveram relação

com atividade de fosfatase ácida. A análise também permitiu a separação do tratamento controle sem calagem na porção negativa do componente principal 1, em posição posta ao pH, já os tratamentos que receberam calagem incorporada também ficaram unidos, apresentando relação com a respiração basal, indicando que há um aumento proporcional na respiração basal do solo com a calagem incorporada.

A análise de componentes principais realizada com as variáveis obtidas a 5-10 cm de profundidade teve 60,3% da variabilidade explicada na componente principal 1 e 21,3% explicada na componente principal 2 (Figura 17).



**Figura 17.** Análise de componentes principais com variáveis microbiológicas e bioquímicas obtidas na profundidade de 5-10 cm do solo (*Resp* = respiração basal, *BMC* = carbono da biomassa microbiana, *BMN* = nitrogênio da biomassa microbiana, *Aril* = arilsulfatase, *D-ase* = desidrogenase, *B-glu* =  $\beta$ -glucosidase, *Celu* = celulase, *F-ase* = fosfatase ácida, *FDA* = diacetato de fluoresceína, *Glut* = glutaminase), onde foram plotadas também as variáveis suplementares relativas a atributos químicos do solo (*CTC* = capacidade de troca de cátions, *C* = carbono orgânico do solo, *P* = fósforo disponível e *pH*). *CO* = sem calagem, *CS* = calagem superficial, *CI* = calagem incorporada, *PO* = sem fósforo, *SFT* = superfosfato triplo, *FNR* = fósforo natural reativo.

A atividade da glutaminase, novamente, teve maior relação com a componente principal 1. De modo geral observou-se uma relação entre C e N da biomassa microbiana e hidrólise do diacetato de fluoresceína (*FDA*) com o carbono orgânico do solo. Os tratamentos com calagem incorporada se posicionaram na

porção negativa da componente principal 2, de forma oposta à maioria dos atributos microbiológicos e bioquímicos, ou variáveis-resposta, e também as variáveis químicas, designadas variáveis explicativas. Quanto às fontes de P, não houve um padrão de distribuição evidente, indicando que o fator calagem apresentou mais influência sobre as variáveis do que o fator adubação fosfatada.

## 7. DISCUSSÃO

A diminuição do C e do N da biomassa microbiana, respiração basal e atividade de várias enzimas (glutaminase, arilsulfatase, fosfatase ácida, desidrogenase e FDA) no solo em que o calcário foi incorporado demonstra o impacto negativo da prática do revolvimento do solo. Esses resultados são evidenciados não apenas pelas análises de variância para cada variável, mas também da análise global revelada na análise de componentes principais. A diminuição da atividade microbiana e bioquímica do solo pode ser evidenciada pelo isolamento na ACP dos tratamentos que receberam calcário incorporado e seu posicionamento contrário às variáveis resposta, indicam que estes estão inversamente relacionados aos atributos estudados. O revolvimento do solo para a incorporação do calcário causa quebra dos agregados do solo que destroi microhabitats, gerando uma situação estressante para a comunidade microbiana. Essa operação também provoca diminuição no teor de matéria orgânica do solo, pela aceleração da oxidação do carbono orgânico, o que fica evidenciado pela diminuição do carbono orgânico total.

O efeito negativo da incorporação do calcário no solo também foi verificado por Balota et al. (1998), comparando o sistema de plantio direto com o convencional. No plantio direto ocorre movimentação do solo apenas na linha de semeadura, proporcionando maior carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, e maior respiração basal do que em áreas de plantio convencional, em que ocorre intenso revolvimento do solo. Indicadores microbiológicos de qualidade de solo foram favorecidos na camada superficial de solo sob plantio direto em relação ao plantio convencional (BINI et al., 2014), indicando que o não revolvimento do solo contribui para a melhoria do sistema de produção. As práticas de aração e gradagem para a incorporação do calcário alteram algumas características físicas do solo, diminuem a porosidade, a distribuição de tamanho e a estabilidade de agregados, além de destruir os canais resultantes da expansão radicular e da atividade biológica, o que prejudica a infiltração de água, aumentando o escoamento superficial e facilitando a erosão (RHENHEIMER et al., 2000).

O aumento da atividade de enzimas em solo sob plantio direto ou sistemas conservacionistas de uso do solo também tem sido verificado, como o para

fosfatase ácida (KLEIN; KOTHS, 1980; DORAN, 1980; BALOTA et al., 1998), desidrogenase (DORAN, 1980), fosfatase e arilsulfatase (DICK, 1984). No presente estudo, a calagem superficial favoreceu a maioria dos atributos microbiológicos e bioquímicos, mas geralmente causou efeito negativo quando foi incorporada ao solo.

A adição de fertilizantes fosfatados, especialmente o superfosfato, favoreceu a maioria das atividades microbiológicas e bioquímicas, exceto atividade de fosfatase ácida e a colonização micorrízica. Como a fertilidade natural do solo estudado é muito baixa, a adição de P solúvel também contribuiu para estimular a comunidade microbiana (LUKITO et al., 1998), que também se beneficia do aumento da produção de biomassa das plantas, que responderam mais à adição do fertilizante solúvel em relação ao de baixa solubilidade. A maior produção de biomassa vegetal representa não apenas maiores entradas de resíduos orgânicos ao solo via decomposição da biomassa vegetal, mas também maior aporte de fontes de carbono de fácil uso pela comunidade microbiana, via exsudatos radiculares (CHÁVEZ et al., 2011).

A acidez do solo afeta grandemente a disponibilidade de fósforo para as plantas terrestres, visto que solos ácidos o fósforo se liga fortemente às partículas de argila e forma compostos relativamente insolúveis com o Fe e Al, num processo denominado fixação do fósforo, convertendo-o numa forma não-lábil (TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2006). Nos solos alcalinos, forma outros compostos insolúveis, por exemplo, com o cálcio. Dessa forma, a combinação entre fontes de fosfato e estratégias de calagem influenciarão na disponibilidade de P no solo, com efeitos esperados nos atributos microbiológicos, visto que o solo da área de estudo apresenta baixa fertilidade natural, que pode ser limitante também para a comunidade microbiana.

O maior desenvolvimento das plantas no tratamento que recebeu fosfato solúvel (HILDEBRANT et al., 2013) proporcionou o aumento da biomassa e da atividade microbiana no solo por meio do aporte de substratos orgânicos, incluindo exsudatos radiculares, que são substratos para a atividade microbiana durante a estação de crescimento (DICK, 1992). A adição de fosfato solúvel pode induzir a exclusão competitiva de microrganismos mineralizadores de fosfato, pela substituição por outros microrganismos do solo (TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2006), como sugere a menor atividade da fosfatase ácida no solo que recebeu SFT. O decréscimo da atividade de enzimas ligadas à mineralização do fósforo sugere

que a comunidade microbiana original, induzida a produzir fosfatase pelos baixos teores originais de P no solo, pode ter sido substituída por outra comunidade quando P solúvel foi adicionado, suprimindo atividade da fosfatase. A maior disponibilidade de P também pode inibir a produção de fosfatases pelo controle da expressão de genes relacionados às vias metabólicas de produção da enzima (SIQUEIRA; ANDRADE; FAQUIM, 2003).

Os SFT afetou negativamente a atividade de fosfatase ácida e a colonização micorrízica, mas estimulou a atividade da arilsulfatase, desidrogenase,  $\beta$ -glucosidase, o carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana, respirometria e glutaminase. Algumas evidências sugerem que repetidas aplicações de fertilizantes solúveis podem suprimir a produção de determinadas enzimas do solo que estão envolvidas no ciclagem de um determinado nutriente (DICK, 1992). Entretanto, quanto à inibição da atividade da fosfatase ácida, os efeitos foram mais evidentes para a calagem do que para a adubação fosfatada. Em condições de baixa disponibilidade de P e, principalmente, baixa deposição de resíduos vegetais no solo, a biomassa microbiana terá papel pouco importante na retenção do P do solo, com pouca influência sobre sua disponibilidade às plantas e pode, inclusive, competir com estas pelo pouco P disponível na solução do solo (GATIBONI et al., 2008). A baixa retenção de P pela comunidade microbiana pode ser observada no presente estudo, pela baixa biomassa microbiana no tratamento controle sem P, ou com fosfato de baixa solubilidade.

A biomassa e a atividade microbiana apresentaram maiores valores nas camadas superiores do solo (VARGAS; SCHOLLES, 2000). Segundo Moreira e Siqueira (2006), a maior atividade biológica do solo situa-se, de modo geral, na camada superior do solo, pois aí ocorre maior acúmulo de matéria orgânica pela deposição de material vegetal da parte aérea, além do maior efeito das raízes, cuja maior parte se concentra nas camadas superficiais do solo, especialmente no caso de culturas anuais. Práticas conservacionistas que mantêm resíduo na superfície podem manter a atividade biológica na camada superficial do solo, mas a atividade nas camadas inferiores pode ser igual ou menor nestes sistemas comparados com solos cultivados (DICK, 1992).

A camada superior do solo apresentou maior teor de fósforo disponível no tratamento FNR do que no tratamento com SFT, apesar da quantidade de fósforo aplicada ter sido a mesma em ambos. Entretanto, há que se considerar

que a quantidade de fósforo disponível não é a mesma em solos que recebem fosfato natural. Dessa maneira, é preciso cautela ao se interpretar esses resultados e considerar a fonte de P aplicada ao solo e o tipo de extrator empregado na análise, uma vez que os extratores ácidos, como o empregado nesse estudo, tendem a superestimar o teor de P disponível (GOMES et al., 2010). Além disso, como a massa de aveia foi maior nos tratamentos com fósforo solúvel (HILDEBRANT et al., 2013), o nutriente foi mais utilizado e imobilizado pelas plantas e por isso foi observado menor teor no tratamento com SFT em relação ao FNR na camada 0-5 cm.

Segundo Costa (2005), a colonização micorrízica e a eficiência micorrízica aumentam com baixos teores de P no solo e pode ser reduzida em altos teores de P disponível. No entanto, em solo muito deficiente de P, a aplicação de pequena quantidade deste nutriente favorece a colonização e esporulação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), embora a aplicação de fósforo de baixa solubilidade, realizada neste trabalho, em área deficiente de P, não tenha estimulado a micorrização, apresentando resultados iguais ao controle. A disponibilidade excessiva de P no solo pode afetar a germinação e o crescimento inicial da hifa, influenciando nas etapas seguintes da simbiose, o que resulta em menor colonização radicular (MIRANDA; HARRIS, 1994), o que pode ser observado neste estudo quando o SFT foi utilizado. De acordo com Silveira (1998), o fósforo afeta o crescimento micelial, de forma variável em função da fonte, concentração e pH, sendo que a adição de fosfato de cálcio estimula a germinação dos esporos. O mesmo foi observado para a adição de carbonato de cálcio, que naquele trabalho estimulou a micorrização.

O teor de carbono orgânico do solo diminuiu com a profundidade, assim como as atividades das enzimas celulase e  $\beta$ -glucosidase, ambas ligadas à ciclagem de carbono a partir de celulose. Segundo Brieds et al. (2012a) a calagem propicia aumento dos teores de carbono orgânico na camada superficial do solo (0-2,5 cm), o que também foi verificado no presente estudo, em que a calagem superficial resultou em maiores teores de carbono orgânico total na camada 0-5 cm. Brieds et al. (2012b) encontraram correlação entre o carbono orgânico total e os teores de P na camada superficial do solo, em consonância com os resultados aqui apresentados. A adição de P, seja de forma de SFT ou FNR também favoreceu ao aumento do teor de C no solo na camada 0-5 cm. Esse aumento é bastante

importante para o aumento da fertilidade do solo, visto que esse solo é arenoso e apresenta baixo teor de matéria orgânica, que é a principal fonte de cargas negativas para sua CTC. Dessa forma, a adubação fosfatada pode contribuir indiretamente para a melhoria de outros atributos do solo via maior aporte de C orgânico propiciado pelo maior desenvolvimento das plantas. Esse aporte também acaba favorecendo a comunidade microbiana do solo e seus processos, visto que passam a contar com mais fontes de energia, maior reserva hídrica e de nutrientes (BINI et al., 2013).

Quanto à cobertura pela aveia-preta, Caires et al. (2006) citaram que esta cultura aumentou as concentrações de P, Ca e Mg nas folhas de milho, de N e P nas folhas de soja, bem como reduziu o Mn no tecido foliar da soja. A manutenção do resíduo de aveia preta sobre a superfície do solo no sistema plantio direto ocasionou acréscimo da ordem de 5 % de produtividade na cultura seguinte, o que demonstra o impacto da cultura de cobertura sobre a cultura posterior, visto que o plantio de cobertura do solo influencia no aporte de nutrientes que serão disponibilizados para a cultura seguinte. Hildebrant et al. (2013) observaram que, para a cultura da soja, nos tratamentos em que a adubação com fósforo foi realizada no cultivo de cobertura, houve maior produtividade do que nos tratamentos onde a adubação fosfatada foi realizada na semeadura da soja. Isto demonstra a importância da ciclagem de nutrientes realizada pelos microrganismos, que mineralizam os nutrientes da palhada para a cultura seguinte.

Devido à baixa fertilidade natural do solo em estudo, o desenvolvimento de culturas agrícolas é altamente dependente da construção da fertilidade do solo e da ciclagem de carbono e nutrientes da matéria orgânica e da biomassa microbiana. Segundo Gatiboni et al. (2008), quanto mais pobre em P disponível for o sistema, maior é a dependência das formas orgânicas, inclusive do P armazenado na biomassa microbiana.

Os tratamentos que estimulam a biomassa e a atividade microbiana, e o conseqüente estímulo de enzimas relacionadas à ciclagem de N, S e P, permitem maior dinâmica dos ciclos biogeoquímicos no solo e o potencial de fornecimento de nutrientes às culturas, possibilitando aumentar a sustentabilidade do sistema de produção (D'ANDRÉA et al., 2003).

Dentre os atributos avaliados nesse trabalho, alguns foram mais sensíveis do que outros na avaliação da qualidade do solo. Assim como citado por

Schlöter, Dilly e Munch (2003), é improvável que exista um único indicador ideal, que possa definir sozinho a qualidade do solo, devido à grande variabilidade de componentes microbiológicos e vias bioquímicas da biota do solo. Dessa forma, o emprego de um conjunto de indicadores para avaliar a qualidade do solo sob um determinado sistema de uso e manejo pode ajudar na interpretação sobre a sustentabilidade daquele ambiente de produção (MELLONI, 2007).

## 8. CONCLUSÕES

As atividades microbiana e bioquímica do solo tiveram maior influência da calagem e da adubação fosfatada nas camadas superficiais. A atividade de desidrogenase, fosfatase ácida, diacetato de fluoresceína, arilsulfatase e colonização micorrízica foram influenciadas por ambos os fatores avaliados, em todas as profundidades amostradas. Isso sugere que estes atributos são mais sensíveis para avaliar a qualidade do solo em condições semelhantes, além terem fácil execução e métodos padronizados.

A incorporação de calcário ao solo afetou negativamente a atividade enzimática, especialmente nas camadas superficiais. Por outro lado, a calagem superficial favoreceu a atividade microbiana e enzimática, por isso foi considerada mais favorável para a qualidade biológica do solo.

A adubação fosfatada estimulou a atividade microbiana no solo. O superfosfato triplo, de maneira geral, apresentou efeito superior em relação ao fosfato natural reativo, exceto para a atividade de fosfatase ácida e colonização micorrízica.

A qualidade do solo pode ser medida por meio de indicadores microbiológicos e bioquímicos. No entanto, há que se empregar um conjunto mínimo de diferentes indicadores para que se possa obter resultados consistentes quanto à capacidade do solo em suprir nutrientes ao sistema de produção.

A calagem superficial e a adubação com fosfato de alta solubilidade foram mais favoráveis à atividade microbiológica e bioquímica do solo e, conseqüentemente, à sustentabilidade do sistema de produção.

## 9. REFERÊNCIAS

ALEF, K. Soil respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. p. 214-219,

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. 576 p.

AL-KHAFAJI, A.A. & TABATABAI, M.A. Effects of trace elements on arylsulfatase activity in soils. **Soil Science**, v.127, p.129-133, 1979.

ALVES, L. **Solubilização de nutrientes contidos em rochas por fungos ectomicorrízicos**. 2006. P. 99. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2006.

AMARAL, A.S. **Reaplicação do calcário em sistema plantio direto consolidado**. 1998. p. 102. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 1998

ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v.21, n.4, p.471-479, 1989.

\_\_\_\_\_. The metabolic quotient from CO<sub>2</sub> ( $qCO_2$ ) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 393-395, 1993.

ANDERSON, T. H. Physiological analysis of microbial communities in soil: Applications and limitations. In: RITT, K; DIGHTON, J.; GILLER, K. E., (Ed.). **Beyond the biomass – compositional and functional analysis of soil microbial communities**. Chichester: John Wiley & Sons, 1994. p. 67-76.

ANDREOLA, F.; FERNANDES, S. A. P. A Microbiota do Solo na Agricultura Orgânica e no Manejo das Culturas *in* **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Ed. SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. Instituto Agrônomo. Campinas, 2007. p.21-38.

ARAÚJO, R.; GOEDERT, W. J. LACERDA, M. P. C. Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31. 2007. p.1099-1108.

ARF, O.; SILVA, L. S.; BUZETTI, S.; ALVES, M. C. DE SÁ, M. E.; RODRIGUES, E. A. F.; HERNANDEZ, F. B. T. Efeitos na cultura do trigo da totação com milho e adubos verdes, na presença e na ausência de adubação nitrogenada. **Bragantia**, Campinas, v. 58(2) p.323-334, 1999

BALIGAR, V.C.; WRIGHT, R.J.; SMEDLEY, M.D. Enzyme activities in hill land soils of the Appalachian region. **Communications in Soil Science Plant Analysis**, 19:367-384, 1988.

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

BARROTI, G.; NAHAS, E. População microbiana total e solubilizada de fosfato em solo submetido a diferentes sistemas de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.10, p.2043-2050, out. 2000.

BINI, D.; SANTOS, C.A.; CARMO, K.B.; KISHINO, N.; ANDRADE, G.; ZANGARO, W.; NOGUEIRA, M.A. Effects of land use on soil organic carbon and microbial processes associated with soil health in southern Brazil. **European Journal of Soil Biology**. v. 55: p. 117-123, 2013.

BINI, D.; SANTOS, C.A.; BERNAL, L.P.T.; ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M.A. Identifying indicators of C and N cycling in a clayey Ultisol under different tillage and uses in winter. **Applied Soil Ecology** v. 76: p. 95-101, 2014.

BODZIAK, C.; MAAK, R.; Contribuição ao conhecimento dos solos dos campos gerais no Estado do Paraná. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 1, p. 197-214, 1946.

BRIEDS, C.; DE SÁ, J. C. M.; CAIRES, E. F.; NAVARRO, J. F. INAGAKI, T. M.; BOER, A. QUADROS NETO, C.; FERREIRA, A. O.; CANALLI, L. B.; SANTOS, J. B. Soil organic matter pools and carbon-protection mechanisms in aggregate classes influenced by surface liming in a no-till system. **Geoderma**. v. 170, p. 80-88, 2012.

BRIEDS, C.; SÁ, J. C. M. CAIRES, E. F.; NAVARRO, J. F. INAGAKI, T. M.; FERREIRA, A. O. Carbono do solo e atributos de fertilidade em resposta à calagem superficial em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.47, n.7, p.1007-1014, jul. 2012.

BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S.; JENKINSON, D.S. Phosphorus in the soil microbial biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, v.16, p.169-175, 1984.

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 & Biochemistry**, Oxford, v. 17, p. 837-842, 1985.

BUZINARO, T. N. **Qualidade microbiológica do solo sob citrus em comparação com outros ecossistemas e sob adubação verde**. p.76. 2006 - Universidade Estadual Paulista. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Jaboticabal-SP. 2006

CAIRES, E. F.; BANZATTO, D.A. & FONSECA, A. Calagem na superfície em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24: p.161-169, 2000.

CAIRES, E. F.; BLUM, J.; BARTH, G.; GARBUIO, F. J.; KUSMAN, M. T. Alterações químicas do solo e resposta da soja ao calcário e gesso aplicados na implantação do sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 27 p. 275-286, 2003.

CAIRES, E. F.; CHAVEIRI, A.W.; MADRUGA, E.F.; FIGUEIREDO, A. Alterações de características químicas do solo e resposta da soja ao calcário e gesso aplicado na superfície em sistema de cultivo sem preparo do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22: p. 27-34, 1998.

CAIRES, E. F.; GARBUIO, F. J.; ALLEONI, L. R. F.; CAMBRI, M. A. Calagem superficial e cobertura de aveia preta antecedendo os cultivos de milho e soja em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa. v.30 n.1. jan./fev. p. 87-98, 2006.

CARDOSO, E. J. B. N.; NAVARRO, R. B.; NOGUEIRA, M. A. Manganês e germinação de esporos de fungos micorrízicos arbusculares *in-vitro*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v.26, p.795-799, 2002.

CARNEIRO, R. G.; MENDES, I. C.; LOVATO, E.; CARVALHO, A. M; VIVALDI, L. J. Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.7, p.661-669, jul. 2004.

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

CASSOL, L. C. **Características físicas e químicas do solo e rendimento de culturas após a reaplicação de calcário, com e sem incorporação, em sistemas de preparo**. 1995. p.98. Dissertação (Mestrado em Agronomia) -Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS. 1995.

CATTELAN, A. J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, p. 133-142, 1990.

CHÁVEZ, L. F.; ESCOBAR, L. F.; ANGHINONI, I.; CARVALHO, C. F.; MEURER, E. J. Diversidade metabólica e atividade microbiana no solo em sistema de integração lavoura-pecuária sob intensidades de pasteio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.10, p.1254-1261, out. 2011

CIOTTA, M. N.; BAYER, C.; ERNANI, P.R.; FONTOURA, S. M. V.; WOBETO, C.; ALBUQUERQUE, J. A. Manejo da calagem e os componentes da acidez de Latossolo Bruno em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28 p. 317-326, 2004

CONTE, E.; ANGHINONI, I.; RHEINHEIMER, D. S. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatase ácida após aplicação de fosfato em solo no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa v. 26, n. 4, 2002, p. 925-930

COOPER, K. M. Physiology of VA mycorrhizal associations. In: POWEL, C. I.; BAYARAJ, D. J., (ed). **VC Mycorrhiza**. Boca Raton: CRC Press, 1984. p. 155-186.

COLOZZI-FILHO, A.; NOGUEIRA, M. A. Micorrizas Arbusculares em Plantas Tropicais: Café, Mandioca e Cana-de-açúcar. in: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. (ed) **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Instituto Agronômico. Campinas, 2007. p.39-56.

CORRÊA, R. M.; NASCIMENTO, C. W. A.; SOUZA, S. K. S.; FREIRE, F. J.; SILVA, G. B. Gafsa rock phosphate and triple superphosphate for dry matter production and P uptake by corn. **Scientia Agricola**. v.62, n.2, Piracicaba-MG. Mar./Apr. 2005. p.159-164

COSTA, C. M. C.; CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; SANTOS, V. F.; MAIA, L. C. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de mangabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 03, p. 225-232, 2005.

COSTA, J.L.S. **Inducing supressiveness to Phytophthora root of avocado by using biochanced mulches**. 1995. 154f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - University of California, CA, 1995.

D'ANDRÉA, A. F.; SILVA, M. L. N.; CURTI, N.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, Brasil, v. 26, n. 4, 2002, p. 913-923

DAVID, M.B.; MITCHELL, M.J. & NAKAS, J.P. Organic and inorganic sulfur constituents of a forest soil and their relationship to microbial activity. **Soil Science Society of America Journal**. v. 46, p.847-852, 1982.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G .M. C, N e P na biomassa microbiana do solo. In: SANTOS, G.de A.; CAMARGO, F.A.de O. (eds.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. p.389-412.

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: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília: Embrapa-SCT, 2005. p.17-28.

DÍAZA, F. J.; TEJEDORB, M.; JIMÉNEZB, C.; DAHLGRENA, R. A. Soil fertility dynamics in runoff-capture agriculture, Canary Islands, Spain. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. v. 144. 2011. p. 253–261.

DICK, R. P. A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. **Agriculture Ecosystems & Environment**. v. 40 p. 25-36, 1992.

DICK, W.A. Influence of long-term tillage and crop rotation combinations on soil enzyme activities. **Soil Science Society American Journal**, v. 48. p. 569-574, 1984.

DICK, W.A.; TABATABAI, M.A. Significance and potential uses of soil enzymes. In: M. JUNIOR (ed.), **Soil Microbial Ecology**. New York: Marcel Dekker, 1993. p.92-127.

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

DORAN, J.W., PARKIN, T.B. Defining soil quality, in: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F., Stewart, B.A. (Eds.), **Defining Soil Quality for a Sustainable Environment**, vol. 35. Soil Science Society of America Special Publications, Madison. 1994. p. 3–21

\_\_\_\_\_. Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set, in: Doran, J.W., Jones, A.J. (Eds.), **Methods for Assessing Soil Quality**, vol. 49. Soil Science Society of America Special Publication, Madison. 1996. p. 25-37.

DORAN, J.W., SANFLEY, M.,. Defining and assessing soil health and sustainable productivity. In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. (Eds.), **Biological Indicators of Soil Health**. CAB International: New York. 1997. p. 1–28.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M.A. Glucosidases and galactosidases. **Soil Biology & Biochemistry**, v.20, p.601-606, 1988.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília, Rio de Janeiro, 1999. 412 p.

\_\_\_\_\_. **Manual de Métodos de Análise de Solos**. 2ª ed. Rio de Janeiro, 212 p. 1997.

ERNANI, P.R.; NASCIMENTO, J.A.L.; CAMPOS, M.L.; CAMILLO, R.J. Influência da combinação de fósforo e calcário no rendimento de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, 2000. p. 537-544

FEIGL, B. J.; CERRI, C. C.; BERNOUX, M. Balanço de carbono e biomassa microbiana em solos da Amazônia. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (ed.). **Ecologia Microbiana**. Embrapa- Meio Ambiente. Jaguariúna-SP. 1998. p. 423-445.

FORTES NETO, P.; FERNANDES, S. A. P.; JAHNEL, M. C. Microbiota da Solo como Indicadora da Poluição do Solo e do Ambiente *in* SILVEIRA, A. P. D. ; FREITAS, S. S. (ed.) **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Instituto Agrônômico. Campinas 2007 p. 259-274.

FRANKENBERGER JR., W. T.; TABATABAI, M. A. L-Glutaminase activity of soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 23, n. 9, p. 869-874, 1991.

FRANZ, W. R. H.; MOREIRA, M.; DIAS, N. M. S.; HERMANN, E. R. Fungos micorrízicos arbusculares nativos e doses de fósforo no desenvolvimento do

amendoim RUNNER IAC 8861. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 3, jul-set, 2011. p. 605-610.

GATIBONI, J. C.; LAMINSKI, J.; RHEINHEIMER, D. S.; BRUNETTO, G. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatases ácidas durante a diminuição do fósforo disponível no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.43, n.8, p.1085-1091, ago. 2008.

GIL-SOTRES, F.; TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRO'S, M.C.; SEOANEA, S. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology & Biochemistry**. v.37. 2005 p.877-887.

GIACOMETTIA, C.; DEMYANB, M. S.; CAVANIA, L.; MARZADORIA, C. C.; KANDELER, E. Chemical and microbiological soil quality indicators and their potential to differentiate fertilization regimes in temperate agroecosystems. **Applied Soil Ecology**. v. 64 p. 32–48, 2013.

GIACOMINI, S. J.; AITA, C.; HÜBNER, A. P.; LUNKES, A.; GUIDINI, E.; AMARAL, E. B.; Liberação de fósforo e potássio durante a decomposição de resíduos culturais em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 9, p. 1097-1104, 2003.

GOMES, M. A. F.; FILIZOLA, H. F. Indicadores físicos e químicos de qualidade de solo de interesse agrícola. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaquariúna-SP. 2006.

Disponível

em:

<[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/Gomes\\_Filizola\\_indicadoresID-u1keja1HAN.pdf](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/Gomes_Filizola_indicadoresID-u1keja1HAN.pdf)> Acesso em: 23 de outubro de 2012.

GOMES, E. A. SOUZA, F. A.; SOUSA, S. M.; VASCONCELOS, M. J. V.; SILVA, SILVA, C. S. Prospecção de comunidades microbianas do solo ativas no aproveitamento agrícola de fontes de fósforo de baixa solubilidade. **Embrapa Milho e Sorgo**. Sete Lagoas-MG. Documentos 107. 2010

HILDEBRANT, M. E.; MELO, M. H.; LOURENÇO, B. F. O.; SCHARR, D. A.; CAIRES, E. F. Calagem superficial ou incorporada e estratégias de adubação fosfatada no estabelecimento do sistema plantio direto a partir de campo nativo. **Anais...** Encontro Anual de Iniciação Científica. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Foz do Iguaçu-PR, 2013.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A. **Importância do sistema de semeadura na população microbiana do solo**. Comunicado Técnico/Embrapa-Soja, Londrina, Paraná, no 56, 1997, p.1-9.

INSTITUTO AGRÔMICO DO PARANÁ - IAPAR. **Estação meteorológica Ponta Grossa: Médias Históricas**. 2012.

Disponível em:

<[http://www.iapar.br/arquivos/Image/monitoramento/Medias\\_Historicas/Ponta\\_Grossa.htm](http://www.iapar.br/arquivos/Image/monitoramento/Medias_Historicas/Ponta_Grossa.htm)> Acesso em: 20 de novembro de 2012

JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil: A method for measuring biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 8, p. 209-213, 1976

KAMINSKI, J.; SANTOS, D. R.; GATIBONI, L. C.; BRUNETTO, G.; SILVA, L. S. Eficiência da Calagem Superficial e Incorporada precedendo o Sistema de Plantio Direto em um Argissolo sob Pastagem Natural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 29, p. 573-580, 2005

KARLEN, D.L.; MAUSBACH, M.J.; DORAN, J.W.; CLINE, R.G.; HARRIS, R.F. & SCHUMAN, G.E. Soil quality: A concept, definition, and framework for evaluation. **Soil Science Society of America Journal**, 61:4-10, 1997.

KER, J. C. Latossolos do Brasil: Uma revisão. **Geonomos**, v. 5. 1997. p.17-40

KLEIN, T.M.; KOTHS, J.S. Urease, protease, and phosphatase in soil continuously cropped to corn by conventional or no-tillage methods. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 12. p.293-294. 1980.

KOEPFEN, W. **Grundriss der Klimakunde**. Berlin. 1931.

KUCEY, R. M. N. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 63, p/ 671-678, 1983.

LAPIDO-LOUREIRO, F. E. V.; MELAMED, R. **O Fósforo na Agricultura Brasileira: Uma abordagem minero-metalúrgica**. Série Estudos e Documentos n. 67: Centro de Tecnologia Mineral. 75 p, 2006.

LEITE, P.F. **As Diferentes Unidades Fitoecológicas da Região Sul do Brasil: Proposta de classificação**. 1994. 160 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 1994.

LUKITO, H.P.; KUONO, K.; ANDO, T. Phosphorus requirements of microbial biomass in a Regosol and a Andosol. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 30. p.865-872, 1998.

MAGID, J.; TIESSEN, H.; CONDRON, L.M. Dynamics of organic phosphorus in soils under natural and agricultural ecosystems. In: PICCOLO, A. (ed.) **Humic substances in terrestrial systems**. Amsterdam, Elsevier, 1996. p.429-466.

MARTINAZZO, R.; SANTOS, D. R.; GATIBONI, G.; BRUNETTO, G.; KAMINSKI, J. Fósforo microbiano do solo sob sistema plantio direto em resposta a adição de fosfato solúvel. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 31. p. 563-570. 2007

MCCORMICK, L. H.; BORDEN, F. Y. The occurrence of aluminum-phosphate precipitate in the plant roots. **Soil Science Society of America Journal**, 38:931-935, 1974.

MELLONI, R. Quantificação Microbiana da Qualidade do Solo. *In* (ed). SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Instituto Agrônômico. Campinas, 2007. p. 193-218.

MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B. d. Microrganismos e seu uso como bioindicadores em sistemas de plantio direto e convencional - Parte II. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**, 2010.

Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/191/>>. Acesso em: 08 jul. 2010.

\_\_\_\_\_. Uso de parâmetros microbiológicos como indicadores para avaliar a Qualidade do Solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**, 2004. (Documentos, 112) 34p.

MENDES, I. C. (cor). Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Rede Bioindicadores de Qualidade do Solo. Projeto: **Uso de parâmetros microbiológicos como bioindicadores par a avaliar a qualidade do solo e a sustentabilidade de agroecossistemas** - fase II. Setembro de 2010.

MENDES, I.C; VIVALDI, L. Dinâmica da biomassa e atividade microbiana em uma área sob mata de galeria na região do DF. In: RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L. da; SOUSA-SILVA, J. C. (Ed.). **Cerrado: caracterização e recuperação de Matas de Galeria**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 2001. p 664-687.

MIRANDA, J. C. C. HARRIS, P. J. Effects of soil phosphorus on spore germination and hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, Oxford, v.128, p.103-108, 1994.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: Editora UFLA. 2ª ed. 729 p. 2006.

NOGUEIRA, M. A.; MELO, W. J. Enxofre disponível para a soja e atividade de arilsulfatase em solo tratado com gesso agrícola. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 27:655-663, 2003.

OLIVEIRA, E. A. **Caracterização florística, fitossociológica e pedológica de um trecho de floresta ripária dos Campos Gerais do Paraná**. 2001. 138 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2001.

OLIVEIRA, V. L.; ROSSI, M. J.; TARGHETTA, B. L. Avanços na aplicação de ectomicorrizas. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD. N. P.; SANTOS, C. E. R. S. (eds) **Microrganismos e Agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura**. Agrolivros, 2008. p.297-332.

PARKIN, T. B.; DORAN, J. W.; FRANCO-VIZCAÍNO, E. Field and laboratory tests of soil respiration. In: DORAN, J. W & JONES, A. J., (eds). **Methods for Assessing Soil Quality**. Madison, Soil Science Society of America, (SSSA Special Publication, 49) 1996. p.231-245.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. Soil microbiology and biochemistry. San Diego: Academic Press, 1996. 340 p.

PAYTAN, A.; MC LAUGHLIN, K. The Oceanic Phosphorus Cycle. **Chemical Reviews**. v. 107, n. 2 p. 563–576, 2007.

PHYLLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment for infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 55, n. 01, p. 158-161, 1970.

POTAFOS. Nutri-Fatos. Arquivo do Agrônomo n. 10. Mar. 1996 disponível em: <[http://brasil.ipni.net/ipniweb/region/brasil.nsf/0/AB7CA2719FEC206683257AA0003BE92A/\\$FILE/Nutrifatos.pdf](http://brasil.ipni.net/ipniweb/region/brasil.nsf/0/AB7CA2719FEC206683257AA0003BE92A/$FILE/Nutrifatos.pdf)> acesso em 12/11/2013.

RALSTON, D.B.; MC BRIDE, R.P. Interaction of mineral phosphate-dissolving microbes with red pine seedlings. **Plant and Soil**, v. 45, p. 493-507, 1976.

RHEINHEIMER, D. S.; ANGHINONI, I. Distribuição do fósforo inorgânico em sistemas de manejo de solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n.1, jan. 2001. p. 151-160

RHENHEINER, D. S.; SANTOS, E. J. S.; KAMINSKI, J.; BORTOLUZZI, E. C.; GATIBONI, L. C. Alterações de atributos do solo pela calagem superficial e incorporada a partir de pastagem natural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p 797-805. 2000.

RICKLEFS, R. E. **The Economy of Nature**. 6th ed: W. H. Freeman and Company. New York. 620 p, 2008.

SANTANA, D. P.; MATTOSO, M. J.; CRUZ, J. C. Definição de Indicadores de Sustentabilidade de Sistemas de Produção de Milho: Um enfoque Regional. **Anais... XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo**. Florianópolis-SC, 2002.

SANTOS, A. S. **Produção, concentração e caracterização parcial de extrato celulolítico produzido por linhagem fúngica mutante**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Tecnologia. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro-RJ. 2011.

SCHÄFFER, A., Pesticide effects on enzyme activities in the soil ecosystem, in: Bollag, J.M., Stotzky, G. (Eds.), **Soil Biochemistry**, vol. 8. Marcel Dekker, New York, p. 273–340. 1993.

SCHMIDT, M. i.; TORN, M. S.; ABIVEN, S.; DITTMAR, T.; GUGGENBERGER, G.; JANSSENS, I. A.; KLEBER, M.; GEL-KNABNER, I.; LEHMANN, J. MANNING, D. A. C. NANNIPIERI, P. RASSE, D.; WEINWE, S.; TRUMBORE, S. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. **Nature**. V. 478. Oct. 2011, p. 49-56.

SCHINNER, F.; VON MERSE, W. Xylanase-, CM-cellulase- and invertase activity in soil: an improved method. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 22, n. 4, p. 511-515, 1990.

SCHLOTTER, M., DILLY, O., MUNCH, J.C. Indicators for evaluating soil quality. **Agriculture Ecosystem & Environment**. v. 98, p. 255–262, 2003.

SCHUNER, J.; ROSSWALL, T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. **Applied and Environmental Microbiology**, Washignton, v.43, p.1256-1261, 1982.

SINGH, J. S; PANDEY, V. C. Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. v. 140. p. 339–353, 2011.

SILVA, A. P. D. Micorrizas. In: CARDOSO, E. J. B. N., TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P., (ed). **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.257-282.

SILVA, F. C.; VAN RAIJ; B. Disponibilidade de Fósforo em Solos Avaliada por Diferentes Extratores. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.34, n.2, fev. 1999 p.267-288

SILVA, M. B.; KLIEMANN, H. J.; SILVEIRA, P. M.; LANNA, A. C. Atributos biológicos do solo sob influência da cobertura vegetal e do sistema de manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.12, p.1755-1761, dez. 2007.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 24, p. 311-319, 2000.

SILVA, M.; SIQUEIRA, E. R.; COSTA, J. L. S. Hidrólise de diacetato de fluoresceína como bioindicador da atividade microbológica de um solo submetido a reflorestamento. **Ciência Rural**, v.34, n.5, set-out, 2004.

SILVEIRA, A. O. **Atividades enzimáticas como indicadores biológicos da qualidade de solos agrícolas do Rio Grande do Sul**. 2007. 95 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Estadual do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2007

SILVEIRA, A. P. D. Ecologia de Fungos Micorrízicos Arbusculares. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (ed.) **Ecologia Microbiana**. Embrapa- Meio Ambiente. Jaguariúna-SP. 1998. p. 61-87

SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. (ed) **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Instituto Agronômico. Campinas, 2007. 317 p.

SIQUEIRA, J. O.; ANDRADE, A. T.; FAQUIN, V. **O papel dos microrganismos na disponibilização e aquisição de fósforo pelas plantas**. International Plant Nutrition Insitute. Universidade Federal de Lavras. São Pedro. 2003

Disponível em: <<http://www.ipni.net/ppiweb/pbrazil.nsf>>. Acesso em: 05/12/2013.

SOUSA NETO, E. L.; ANDRIOLI, I.; BEUTLER, A. N.; CENTURION, J. F. Atributos físicos do solo e produtividade de milho em resposta a culturas de pré-safra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.43, n.2, p.255-260, fev. 2008

SORHEIM, R.; TORSVIK, V .L.; GOKSOYR, J. Phenotypical divergence between populations of soil bacteria isolated on different media. **Microbial Ecology**, v.17, p.181-192, 1989.

SOUZA, A. E.; FONSECA, D. S. Fosfato. In: Economia Mineral do Brasil: in RODRIGUES, A. F. S. (coord). **Economia Mineral do Brasil**: Departamento Nacional de Produção Mineral, 2009. 764 p. 546-568. .

SPARLING, G. P.; WEST, A. W. A direct extraction method to estimate soil microbial-C: calibration in situ using microbial respiration and <sup>14</sup>C-labelled cells. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 20, n. 3, p. 337-343, 1988.

STAMFORD, N. P.; IZQUIERDO, C. G.; FERNÁNDEZ, M. T. H.; MORENO, M. C. M. Biofertilizantes de rochas fosfatadas e potássicas com enxofre e *Acidithiobacillus*. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; ATAMFORD. N. P.; SANTOS, C. E. R. S. (eds) **Microrganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura**: Agrolivros, 2008. 568 p. 401-422

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

TABATABAI, M.A. & BREMNER, J.M. Arylsulfatase activity of soils. **Soil Science Society of America Proceedings**. V. 34. p.225-229, 1970.

TER BRAAK, C.J.F., SMILAUER, P. **CANOCO Reference Manual and User's Guide toCanoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination (Version4)**. Microcomputer Power, Ithaca, NY, pp. 352. 1988.

TIRLONI, C.; VITORINO, A. C. T.; NOVELINO, D. T.; COIMBRA, D. S. Disponibilidade de fósforo em função das adições de calagem e de um bioativador do solo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 977-984. 2009

TORSVIK, V.; GOKSOYR, J.; DAAE, F .L. High diversity in DNA soil bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v.56, p.782-787, 1990.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Ecology : from individuals to ecosystems**. 4th ed: Blackweel Publishing Oxford, UK. 738 p. 2006.

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

VARGAS, L. K.; SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de C-CO<sub>2</sub> e N mineral de um solo podzólico vermelho escuro submetido a diferentes sistemas de manejo. Revista **Brasileira de Ciência do Solo**, vol. 24, núm. 1, 2000, pp. 35-42.

YOUNG, C.C. Effects of phosphorus-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of tree species in subtropical-tropical soils. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v.36, n.2, p.225-231, 1990.

**Apêndice A.** Acidez trocável, Alumínio (Al) no solo, em  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ , nas profundidades 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, para os efeitos dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) e os respectivos valores de  $p > F$ .

Al 0-5 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,68	0,48	0,63	0,60 a
Superficial	0,08	0,03	0,03	0,05 b
Incorporado	0,13	0,06	0,08	0,09 b
Média	0,30 a	0,25 b	0,19 c	
ANAVA	Calcário (C)>0,01	Fósforo (F)>0,01		CxF=0,12

Al 5-10 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,70	0,61	0,55	0,62 a
Superficial	0,21	0,06	0,15	0,14 b
Incorporado	0,03	0,03	0,05	0,03 c
Média	0,31 a	0,23 a	0,25 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,87		CxF=0,49

Al 10-20 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,75	0,58	0,65	0,66 A
Superficial	0,36	0,41	0,30	0,36 B
Incorporado	0,03	0,03	0,10	0,05 C
Média	0,38 a	0,34 a	0,35 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,68		CxF=0,24

Al 20-40 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,72	0,68	0,72	0,70 A
Superficial	0,58	0,43	0,51	0,51 B
Incorporado	0,28	0,31	0,46	0,35 C
Média	0,52 a	0,47 a	0,56 a	-
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,26		CxF=0,36

**Apêndice B.** Acidez potencial ( $H^+ + Al$ ) no solo, em  $cmol_c\ kg^{-1}$ , nas profundidades 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, para os efeitos dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) e os respectivos valores de  $p>F$ .

H+Al 0-5 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	5,29 a a	4,28 a c	4,74 a b	4,77 a
Superficial	3,04 b b	2,58 c ab	2,89 c a	2,84 c
Incorporado	3,13 b b	3,16 b ab	3,55 b a	3,28 b
Média	3,82 a	3,73 a	3,34 b	
ANAVA	Calcário (C)>0,01	Fósforo (F)>0,01		CxF=0,04

H+Al 5-10 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	4,95	4,47	4,46	4,63 a
Superficial	3,75	3,29	3,81	3,61 b
Incorporado	2,76	2,89	3,29	2,98 c
Média	3,82 a	3,55 a	3,85 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,14		CxF=0,13

H+Al 10-20 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	4,02	4,32	4,21	4,18 A
Superficial	3,74	3,80	3,91	3,81 B
Incorporado	2,90	3,03	3,26	3,06 C
Média	3,55 a	3,72 a	3,79 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,05		CxF=0,91

H+Al 20-40 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	3,82	4,15	4,09	4,02 A
Superficial	3,62	3,44	3,92	3,66 B
Incorporado	3,29	3,64	3,65	3,52 B
Média	3,57 b	3,74 ab	3,89 a	
ANAVA	Calcário (C)= 0,00	Fósforo (F)=0,04		CxF=0,25

**Apêndice C.** Teores de potássio no solo (K), em  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ , nas profundidades 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, para os efeitos dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) e os respectivos valores de  $p > F$ .

K 0-5 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,32	0,39	0,34	0,35 b
Superficial	0,36	0,38	0,45	0,36 b
Incorporado	0,40	0,36	0,37	0,41 a
Média	0,36 a	0,38 a	0,39 a	
ANAVA	Calcário (C)=0,04	Fósforo (F)=0,47		CxF=0,29

K 5-10 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,24 b a	0,29 b a	0,26 b a	0,26 a
Superficial	0,28 b b	0,26 b b	0,31 a a	0,30 b
Incorporado	0,34 a a	0,34 a a	0,35 a a	0,33 c
Média	0,28 a	0,30 a	0,31 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,36		CxF=0,03

K 10-20 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,17 Cb	0,15 Aa	0,17 Bb	0,16 C
Superficial	0,20 Ba	0,17 Bb	0,19 Ba	0,19 B
Incorporado	0,25 Aa	0,19 Ab	0,17 Ac	0,20 A
Média	0,21 a	0,17 b	0,18 b	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)<0,01		CxF<0,01

K 20-40 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,12	0,09	0,11	0,11 a
Superficial	0,13	0,10	0,10	0,11 a
Incorporado	0,13	0,09	0,09	0,10 a
Média	0,12 a	0,09 b	0,10 b	
ANAVA	Calcário (C)= 0,38	Fósforo (F)=0,00		CxF=0,15

**Apêndice D.** Teores de Ca no solo, em  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ , nas profundidades 0-5, 5-10, 10-20, 20-40 cm, para os efeitos dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) e os respectivos valores de  $p > F$ .

Ca 0-5 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,74	1,18	1,00	0,98 c
Superficial	2,59	3,04	2,97	1,78 b
Incorporado	1,84	1,86	1,63	2,86 a
Média	1,72 b	1,87 ab	2,03 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,05		CxF=0,29

Ca 5-10 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,38	0,63	0,55	0,52 a
Superficial	0,99	1,42	1,30	1,24 b
Incorporado	1,89	2,05	1,57	1,83 c
Média	1,07 b	1,37 a	1,14 b	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,03		CxF=0,21

Ca 10-20 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,21	0,30	0,35	0,29 C
Superficial	0,46	0,51	0,58	0,52 B
Incorporado	1,28	1,25	1,14	1,22 A
Média	0,65 a	0,69 a	0,69 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,80		CxF=0,49

Ca 20-40 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,16	0,24	0,23	0,21 C
Superficial	0,26	0,31	0,37	0,31 B
Incorporado	0,35	0,39	0,37	0,37 A
Média	0,26 b	0,32 a	0,32 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,03		CxF=0,52

**Apêndice E.** Teores de Mg no solo, em  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ , nas profundidades 0-5, 5-10, 10-20, 20-40 cm, para os efeitos dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) e os respectivos valores de  $p > F$ .

Mg 0-5 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,22	0,27	0,30	0,26
Superficial	1,43	0,69	1,67	1,60
Incorporado	0,76	1,71	0,60	0,68
Média	0,80 a	0,86 a	0,89 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,53		CxF=0,27

Mg 5-10 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,14 c a	0,13 b a	0,14 b a	0,14 b
Superficial	0,77 b b	1,11 a a	0,95 a ab	0,94 a
Incorporado	1,01 a a	1,11 a a	0,72 a b	0,94 a
Média	0,64 b	0,60 b	0,78 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,07		CxF=0,09

Mg 10-20 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,06	0,08	0,08	0,07 C
Superficial	0,37	0,47	0,42	0,42 B
Incorporado	0,85	0,88	0,72	0,82 A
Média	0,43 a	0,47 a	0,41 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,41		CxF=0,54

Mg 20-40 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,05	0,07	0,05	0,06 C
Superficial	0,14	0,16	0,20	0,17 B
Incorporado	0,26	0,31	0,21	0,26 C
Média	0,15	0,18	0,15	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,60		CxF=0,43

**Apêndice F**, Soma de bases (K+Ca+Mg+Na) em  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ , nas profundidades 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, para os efeitos dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) e os respectivos valores de  $p > F$ ,

Bases 0-5 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	1,29 c	1,85 c	1,65 c	1,69 c
Superficial	4,43 a	5,14 a	5,10 a	4,89 a
Incorporado	2,96 b	2,92 b	2,61 b	2,83 b
Média	2,89 b	3,30 a	3,12 ab	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,11		CxF=0,25

Bases 5-10 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,76 c a	1,06 c a	0,96 b a	0,93 c
Superficial	2,04 b b	2,81 b a	2,60 a a	2,48 b
Incorporado	3,21 a a	3,51 a a	2,61 a b	3,11 a
Média	2,00 b	2,06 b	2,46 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,02		CxF=0,08

Bases 10-20 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,45	0,53	0,61	0,53 c
Superficial	1,04	1,16	1,20	1,13 b
Incorporado	2,39	2,33	2,03	2,25 a
Média	1,29 a	1,34 a	1,28 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,87		CxF=0,38

Bases 20-40 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	0,34	0,41	0,40	0,38 C
Superficial	0,53	0,58	0,68	0,60 B
Incorporado	0,75	0,80	0,67	0,74 A
Média	0,54 a	0,60 a	0,58 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,54		CxF=0,43

**Apêndice G**, Capacidade da troca de cátions (CTC) em  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ , nas profundidades 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, para os efeitos dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) e os respectivos valores de  $p > F$ ,

CTC 0-5 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	6,58	6,14	6,40	6,37 b
Superficial	7,47	7,72	8,00	7,73 a
Incorporado	6,10	6,08	6,16	6,11 b
Média	6,71 a	6,65 a	6,85 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,61		CxF=0,61

CTC 5-10 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	5,72	5,79	5,97	5,56 b
Superficial	5,53	6,10	6,40	6,10 a
Incorporado	5,43	6,41	5,91	6,09 a
Média	5,82 a	6,01 a	5,92 a	-
ANAVA	Calcário (C)=0,01	Fósforo (F)=0,63		CxF=0,24

CTC 10-20 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	4,48	4,85	4,83	4,72 b
Superficial	4,78	4,96	5,12	4,95 b
Incorporado	5,29	5,36	5,29	2,31 a
Média	4,85 a	5,06 a	5,08 a	
ANAVA	Calcário (C)<0,01	Fósforo (F)=0,29		CxF=0,84

CTC 20-40 cm		Fósforo		
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	4,17	4,56	4,50	4,41 A
Superficial	4,15	4,03	4,60	4,26 A
Incorporado	4,04	4,44	4,32	4,27 A
Média	4,12 b	4,34 ab	4,47 a	
ANAVA	Calcário (C)= 0,46	Fósforo (F)=0,04		CxF=0,22

**Apêndice H**, Saturação por bases (V%), nas profundidades 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, para os efeitos dos fatores calagem (controle, superficial ou incorporada) e adubação fosfatada (controle, fosfato natural reativo – FNR ou superfosfato triplo - SFT) e os respectivos valores de  $p > F$ ,

V 0-5 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	19,42 c b	30,60 c a	25,92 c a	25,32 c
Superficial	59,31 a b	66,53 b a	63,42 a ab	63,09 b
Incorporado	48,45 b a	48,09 a a	42,12 b b	46,22 a
Média	42,40 b	48,41 a	43,82 b	
ANAVA	Calcário (C) > 0,01	Fósforo (F)=0,01		CxF=0,05

V 5-10 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	13,34 c a	19,22 c a	17,82 b a	16,79 c
Superficial	35,19 b b	45,97 b a	40,55 a ab	40,60 b
Incorporado	53,72 a a	55,07 a a	44,11 a ab	50,97 a
Média	34,12 b	34,16 b	40,09 a	-
ANAVA	Calcário (C) > 0,01	Fósforo (F)=0,02		CxF=0,07

V 10-20 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	10,15	11,00	12,69	11,28 c
Superficial	21,81	23,48	23,63	22,97 b
Incorporado	45,11	43,42	38,30	42,28 a
Média	25,69 a	25,97 a	24,87 a	
ANAVA	Calcário (C) < 0,01	Fósforo (F)=0,85		CxF=0,35

V 20-40 cm				
Fósforo				
Calcário	Controle	FNR	SFT	Média
Controle	8,26	9,00	8,98	8,75 C
Superficial	13,09	14,23	14,91	14,08 B
Incorporado	18,65	17,92	15,53	17,37 A
Média	13,33 a	13,72 a	13,14 a	
ANAVA	Calcário (C) < 0,01	Fósforo (F)=0,85		CxF=0,42