



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA**

DÁFILA DOS SANTOS DE LIMA

**INDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO SOB SISTEMA
DE PRODUÇÃO AGRÍCOLA CONVENCIONAL EM
CONVERSÃO PARA AGROECOLÓGICO**

**Londrina
2007**

DÁFILA DOS SANTOS DE LIMA

**INDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO SOB SISTEMA
DE PRODUÇÃO AGRÍCOLA CONVENCIONAL EM
CONVERSÃO PARA AGROECOLÓGICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador: Prof. Dr. Galdino Andrade Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Marco Antonio
Nogueira

DÁFILA DOS SANTOS DE LIMA

INDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO SOB SISTEMA DE PRODUÇÃO AGRÍCOLA CONVENCIONAL EM CONVERSÃO PARA AGROECOLÓGICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

Aprovada em: 21 / 12 / 2007

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Osmar Rodrigues Brito	UEL
Profa. Dra. Diva de Souza Andrade	IAPAR
Prof. Dr. Maurício Ursi Ventura	UEL
Prof. Dr. Fernando Gomes Barcellos	EMBRAPA

Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira
Co-orientador
Universidade Estadual de Londrina

Dedico à minha mãe e à minha avó, que não está mais presente. Elas me educaram e me deram amor suficiente para crescer.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois é ele quem mostra o caminho certo a seguir.

Agradeço ao Prof. Marco que foi mais que um orientador para mim, foi um amigo nas horas difíceis e nas horas fáceis, me incentivou, me deu forças e eu pude absorver um pouco de seu vasto conhecimento.

Ao Prof. Galdino por me incentivar a fazer o mestrado e pela colaboração com a Dissertação.

À ASPTA, representada pelo Eng. Agrônomo Edinei de Almeida, pela indicação das áreas amostradas e pelo auxílio durante a amostragem.

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

Aos meus amigos que fiz nessa caminhada, Marina, Ivana, Kellen, Diogo e Junior, esses eu vou lembrar por toda minha vida.

A todos os colegas de laboratório.

Gostaria de agradecer também a algumas pessoas que fazem parte da minha vida, Fabrício e Camila, que eu sei que posso contar em todos os momentos.

Um especial carinho aos meus gatos, Dafi, Monstrinho e Tuffiki, sem eles eu seria muito mais estressada.

Um super obrigado a todos.

LIMA, Dáfila S. **Indicadores de qualidade do solo sob sistema de produção agrícola convencional em conversão para agroecológico**. 2006/2007. 63f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

RESUMO

Indicadores microbiológicos e bioquímicos de qualidade de solo, principalmente aqueles relacionados aos ciclos do carbono e nitrogênio, são úteis para avaliar o efeito do manejo do solo e seu impacto na sustentabilidade dos agroecossistemas. O objetivo neste trabalho foi avaliar as alterações que ocorrem no solo, decorrentes da transição da agricultura convencional para o sistema agroecológico de produção, através do uso de indicadores microbiológicos e bioquímicos da qualidade de solo. O estudo foi realizado em áreas de agricultura familiar na região Centro-Sul do Estado do Paraná. As amostras de solo (0-10 cm) foram obtidas em áreas com diferentes épocas de adoção do sistema agroecológico, cultivadas com feijão e milho (1 a 5 anos) e também em áreas sob cultivo convencional de soja, milho e tabaco, além de uma área de floresta secundária usada como referência. Foram avaliados alguns grupos funcionais de microrganismos cultiváveis, comprimento de hifa, densidade de esporos de fungos micorrízicos, taxas de amonificação e nitrificação, biomassa de carbono e nitrogênio, respirometria e argila dispersa em água, atividade das enzimas desidrogenase, celulase, amilase, urease, asparaginase, glutaminase, fosfatase ácida e alcalina e o teor de carboidratos solúveis em água quente. Em geral, os microrganismos cultiváveis do solo obtiveram maiores ocorrências nas áreas cultivadas e menor na floresta. Os conteúdos de biomassa microbiana de C e N do solo, juntamente com a taxa de amonificação, foram maiores na área de floresta, menores na área de tabaco e intermediários nas outras áreas. Já a taxa de nitrificação foi menor na floresta e tabaco e maior nas outras áreas. Em geral, as atividades enzimáticas e o teor de carboidratos solúveis no solo foram maiores na área de floresta, seguidos pelas áreas com feijão agroecológico mais antigas e menores na área de tabaco. Algumas variáveis analisadas em áreas sob sistema agroecológico tenderam a se aproximar daquelas encontradas no solo florestal, mas outras foram semelhantes às encontradas em áreas de cultivo convencional. Comparações baseadas em análise multivariada indicaram que os sistemas mais contrastantes foram o cultivo de tabaco e a área sob floresta, enquanto que as outras áreas permaneceram em posições intermediárias em relação às duas. De modo geral, o solo florestal apresentou os melhores indicadores de qualidade de solo, seguido pelo solo sob cultivo agroecológico e, por último, o solo cultivado com tabaco. Alguns dos indicadores de qualidade de solo possibilitaram distinguir o efeito dos manejos e indicar uma tendência para a sustentabilidade ou degradação do agroecossistema.

Palavras-chave: Agroecologia. Análise multivariada. Biomassa microbiana de carbono e nitrogênio. Enzimas do solo. Carboidratos.

LIMA, Dáfila S. **Indicators of soil quality under conventional agricultural production system in conversion to agroecological**. 2006/2007. 63.f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

ABSTRACT

Microbial and biochemical indicators of soil quality, mainly those related to carbon and nitrogen cycling, are useful to access the effect of soil management and its effects on the sustainability of the agroecosystems. The aim of this work was to access changes occurring in the soil due to the transition from conventional to agroecological agricultural systems, by means of microbial and biochemical indicators of soil quality. The study sites are located on smallholder farms at the southern region of Paraná State, Brazil. Soil samples were taken (0-10 cm) from areas with different times since the adoption of the agroecological system, being cropped with common-bean and maize (1 to 5 years), areas under conventional cropping of soybean, maize and tobacco, in addition to an area under secondary forest, used as reference. Assessments comprised some cultivable functional microbial groups, hyphae length, density of endomycorrhizal spores, ammonification and nitrification rates, C and N microbial biomasses, CO₂ evolution, water-dispersed clay, enzyme activities (dehydrogenase, cellulose, amylase, urease, asparaginase, glutaminase, acidic and alkaline phosphatases), and hot-water soluble carbohydrates. In general, the functional microbial groups prevailed in the cropped soils in relation to the forest soil. The microbial C and N biomasses and ammonification rates were higher in the forest soil, the lowest in the tobacco soil and intermediary in the other sites. The nitrification rates were the lowest in the forest and tobacco soils. In general, the soil enzyme activities and hot-water soluble carbohydrates were greater in the forest soil, followed by the common-bean soils under agroecological management for longer time, while the tobacco soil had the lower records. Some variables assessed in the soils under agroecological system showed a tendency towards the soil characteristics under forest, but others were similar to the characteristics found in the conventional systems. Comparisons based on multivariate analysis showed that the most contrasting systems were conventional tobacco and forest, while the other sites remained as intermediate between them. In general, the soil under forest showed the best indexes of soil quality, followed by the agroecological systems and, at the end, the tobacco-cropped soil. Some of the microbial and biochemical indicators of soil quality were capable to distinguish between soils differentially managed and point out to the tendency of the agroecosystem, whether to sustainability or to degradation.

Keywords: Agroecology. Carbon and Nitrogen microbial biomasses. Multivariate analysis. Soil enzymes. Soil carbohydrates.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. SISTEMAS AGRÍCOLAS	3
2.2. MICRORGANISMOS DO SOLO.....	4
2.2.1. Disponibilização de Nutrientes no Solo.....	5
2.2.2. Biomassa Microbiana.....	6
2.2.3. Atividade Microbiana	7
2.2.4. Diversidade Funcional	9
2.3. ENZIMAS DO SOLO	11
2.4. CARBONO NO SOLO.....	13
2.5. ARGILA DISPERSA	14
2.6. USO DE INDICADORES BIOLÓGICOS	14
3. ARTIGO A: ATIVIDADES ENZIMÁTICAS EM SOLOS SOB TRANSIÇÃO DE SISTEMA DE PRODUÇÃO AGRÍCOLA CONVENCIONAL PARA AGROECOLÓGICO	15
3.1. INTRODUÇÃO	16
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.3. RESULTADOS	20
3.4. DISCUSSÃO	27
3.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
4. ARTIGO B: INDICADORES BIOLÓGICOS DE QUALIDADE DO SOLO NA TRANSIÇÃO DE SISTEMA DE PRODUÇÃO AGRÍCOLA CONVENCIONAL PARA AGROECOLÓGICO	35

4.1. INTRODUÇÃO	36
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	38
4.3. RESULTADOS	41
4.4. DISCUSSÃO	48
4.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
5. CONCLUSÕES GERAIS	57
REFERÊNCIAS	58

1. INTRODUÇÃO

As formas de uso e manejo do solo podem afetar diretamente a sustentabilidade dos sistemas agrícolas. O cultivo convencional, com as tradicionais práticas de aração e gradagem para o preparo do solo, causam a redução do seu conteúdo de matéria orgânica e aumenta a erosão, resultando em alterações químicas, físicas e biológicas. Isso aumenta a dependência de insumos industrializados, o que reflete no aumento dos custos de produção, além da alta utilização de produtos fitossanitários. Por outro lado, sistemas agroecológicos visam manter ou aumentar os níveis de produtividade de maneira menos dependente de insumos industrializados. A manutenção da sustentabilidade depende diretamente da atividade microbiana, a qual atua na ciclagem da matéria orgânica e nutrientes nos ciclos biogeoquímicos, bem como na fixação de nitrogênio (N) atmosférico e na solubilização de nutrientes pouco móveis no solo como o fósforo (P). Apesar de no sistema agroecológico também haver revolvimento do solo, que pode levar a erosão, há maiores entradas de matéria orgânica que ajudam a estabilizar os agregados no solo, além da maior utilização de adubos verdes que não deixam o solo exposto. Assim práticas que visam a conservação do solo são necessárias para manter a sustentabilidade do sistema agrícola.

O solo é o habitat da maior parte da diversidade microbiana da Terra, compreendendo bactérias, fungos, algas e protozoários, distribuídos em vários gêneros e espécies. A quantidade, bem como a atividade destes organismos varia de solo para solo, sendo influenciadas pelo conteúdo de matéria orgânica, textura, pH, composição química, temperatura, aeração e outros fatores. Além da atividade microbiana do solo, outro aspecto importante é a diversidade de espécies microbianas que ocorrem no ambiente. Entretanto, essa informação ainda é limitada pelo fato de que a grande maioria dos microrganismos do solo não pode ser cultivada em condições artificiais. Estima-se que apenas de 1 e 10% dos microrganismos do solo sejam cultivados em meios artificiais, pois não se consegue simular exatamente todas as condições necessárias para seu desenvolvimento. Assim, ainda há um vasto campo a ser pesquisado sobre os microrganismos do solo e seu papel no ambiente.

Os teores de N mineral no solo são geralmente baixos, apesar das altas exigências de N na nutrição das plantas. Além disso, o nitrogênio na forma nítrica é facilmente perdido por processos como lixiviação e desnitrificação. O suprimento de N para as plantas em ecossistemas naturais vem principalmente da mineralização da matéria orgânica do solo e da fixação biológica. Para que o N presente na forma orgânica seja assimilado pelas

plantas precisa ser mineralizado pelos microrganismos do solo pelo processo denominado amonificação. Em seguida, o N amoniacal pode ser convertido a nitrito e a nitrato, num processo denominado nitrificação e que é intermediado por microrganismos quimiolitotróficos. Qualquer alteração imposta ao ambiente em equilíbrio, como a remoção da cobertura vegetal nativa, afeta as atividades dos microrganismos do solo e, conseqüentemente, o ciclo do N.

O carbono (C) proveniente da matéria orgânica do solo é fonte de energia para os microrganismos, seu teor influencia diretamente a atividade biológica do solo. Tanto o teor de C como a atividade biológica podem ser utilizados como indicadores da degradação ou recuperação do solo. A atividade biológica não está ligada apenas ao teor de C orgânico do solo, mas também às alterações no modo de uso do solo, o que vai influenciar no regime de umidade, aeração, presença de substâncias xenobióticas e seus efeitos sobre a comunidade microbiana.

As enzimas do solo participam dos processos de decomposição dos materiais orgânicos, bem como das transformações inorgânicas, apresentando grande influência na fertilidade do solo, nas interações entre plantas e microrganismos, na eficiência do uso de fertilizantes e no estado de oxi-redução do solo. Envolvidas no ciclo dos nutrientes, tais como N e P, e do C, atuam na liberação de suas formas minerais para as plantas e microrganismos. Além disso, as atividades das enzimas podem ser indicadoras da atividade microbiana do solo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. SISTEMAS AGRÍCOLAS

A agricultura sustentável visa suprir as necessidades do presente sem comprometer seu potencial produtivo para as próximas gerações. Práticas agrícolas racionais devem propiciar produções sustentáveis, economicamente viáveis e, ao mesmo tempo, aumentar ou manter a capacidade produtiva do solo (FERREIRA et al., 2000). Segundo Doran (1997), a melhor maneira de se avaliar a sustentabilidade de um sistema de produção é medir seu impacto sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, sua capacidade de suportar o desenvolvimento das plantas por meio do suprimento de água e nutrientes, e sua atuação na imobilização ou remoção de compostos potencialmente danosos ao ambiente.

Um ecossistema sustentável, seja agrícola ou natural, depende do fluxo de nutrientes através dos níveis tróficos, os quais são mediados principalmente por microrganismos que atuam na transformação e mineralização da matéria orgânica do solo (CHEN et al., 2003). Em florestas em equilíbrio, até 95% do N recircula em um sistema solo-planta-microrganismos quase fechado (ROSSWALL, 1976). Entretanto, quando a vegetação nativa é removida e o solo utilizado para a agricultura, o sistema se torna aberto, o que cria uma demanda externa pelos nutrientes removidos pelas colheitas, lixiviação e erosão (BRUSSAARD et al., 2004). Por esse motivo, a capacidade do solo em suportar ecossistemas naturais ou agrossistemas introduzidos depende da reciclagem dos nutrientes contidos na serrapilheira e na matéria orgânica do solo por meio da ação microbiana.

Sistemas agrícolas inadequadamente manejados levam à degradação do solo, sendo preciso estratégias para o restabelecimento das suas propriedades naturais. A recomposição da cobertura vegetal, e conseqüente aumento da entrada de matéria orgânica, podem contribuir para restabelecer a sustentabilidade do sistema (NOGUEIRA et al., 2006; TRIPATHI et al., 2007).

Recentemente, Melero et al. (2006) avaliaram a resposta dos microrganismos do solo à adoção do sistema orgânico de produção agrícola e observaram que o sistema orgânico aumentou o conteúdo de matéria orgânica, a biomassa e a atividade microbiana, melhorando a qualidade e a capacidade do solo em sustentar o crescimento e a produtividade vegetal.

Práticas agrícolas que reduzem a degradação do solo e promovem a sustentabilidade agrícola são especialmente necessárias nos solos tropicais e subtropicais. Por exemplo, o sistema de plantio direto na palha causa mínima perturbação do solo e, quando combinado com rotação de culturas, pode ser uma prática favorável para o aumento de produção e atividade biológica no solo (BALOTA et al., 2004). Além do plantio direto, existem outros sistemas agrícolas chamados alternativos, como a agricultura orgânica, agroecológica e biodinâmica. Nota-se um crescimento recente da adoção desses sistemas agrícolas devido à preocupação em reduzir impactos ambientais indesejáveis e reduzir os custos de produção agrícola.

É fato que atualmente existem vastas áreas no Brasil dedicadas às monoculturas, situação em que se procura a máxima produtividade baseada no uso de insumos químicos, como fertilizantes e produtos fitossanitários. Entretanto, questiona-se a sustentabilidade desse tipo de sistema de produção e quais serão seus efeitos sobre o ambiente em longo prazo. Por outro lado, os sistemas alternativos de produção agrícola procuram utilizar mais racionalmente os recursos naturais, contribuindo para promover a conservação do solo e do ambiente. O melhor entendimento de como cada sistema de produção agrícola afeta as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo poderá contribuir para inferir sobre a sustentabilidade do sistema de produção (DORAN e ZEISS, 2000).

2.2. MICRORGANISMOS DO SOLO

Os microrganismos do solo são facilmente afetados pelas práticas de manejo do solo e pelo clima. Sua atividade correlaciona-se com a decomposição e síntese da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, degradação de poluentes e supressão de organismos nocivos e patogênicos (DORAN e ZEISS, 2000). Os microrganismos do solo são considerados essenciais aos ecossistemas, uma vez que atuam na decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e alteram as propriedades físicas e químicas do solo com resultados diretos na sua fertilidade (FREY et al., 1999). Por sua vez, a atividade dos microrganismos no solo sofre grande influência do ambiente, inclusive aquela proveniente do uso e manejo do solo e da vegetação, que causam modificações quantitativas e qualitativas na sua estrutura (De FEDE et al., 2001).

2.2.1. Disponibilização de Nutrientes no Solo

Nos ecossistemas naturais, o C e os nutrientes recirculam principalmente por meio da ação microbiana e suas interações. Quando esse ecossistema é perturbado, como é o caso na agricultura, um novo equilíbrio é estabelecido (LEMENIH et al., 2005). Pelo menos em áreas tropicais e subtropicais úmidas, as entradas de C no solo por meio dos resíduos agrícolas são geralmente menores do que na floresta nativa. Dessa forma, a quantidade e a diversidade de compostos de C utilizados pelos microrganismos como fonte de energia são reduzidas, o que pode alterar os ciclos biogeoquímicos no solo (BADIANE et al., 2001). Além disso, a adição de substâncias xenobióticas, como os produtos fitossanitários e herbicidas, podem afetar estrutural e funcionalmente a comunidade microbiana do solo (SEGHERS et al., 2003).

As entradas de N no solo dos ecossistemas naturais, seja pela fixação biológica e/ou deposição atmosférica, são geralmente pequenas, de forma que o N precisa ser reciclado eficientemente (MUMMEY et al., 2002). Por outro lado, os sistemas “abertos” exigem aportes externos de N mineral, o que pode causar impactos indesejáveis no ambiente. Por exemplo, o nitrato é facilmente lixiviado no perfil do solo ou desnitrificado. Dessa forma, o N imobilizado na biomassa microbiana representa uma importante reserva de N no solo. Nogueira et al. (2006) encontraram maior disponibilidade de N mineral, em contraste com menor biomassa microbiana de C e N, e respiração basal em ambientes agrícolas, comparados aos de reflorestamento e com vegetação nativa. Isso, segundo Mummey et al. (2002) denota uma ciclagem ineficiente do N no solo do ambiente agrícola, expondo-o a perdas por lixiviação ou desnitrificação.

O N no solo ocorre predominantemente na forma orgânica, sendo a regulação de sua disponibilidade quase totalmente dependente da ação microbiana através da mineralização da matéria orgânica. Insan et al. (1996) indicaram que as transformações do N no solo, como a amonificação e nitrificação, são altamente afetadas pelas formas de manejo impostas ao mesmo. A menor taxa de nitrificação sugere menor potencial de perda de N do sistema por lixiviação. Já a maior taxa de amonificação indica maiores quantidades de N que podem ser mineralizadas no solo e disponibilizadas à comunidade microbiana e vegetal. Conforme Lima et al. (2006), a maior taxa de amonificação ocorre na área de floresta secundária, enquanto as menores taxas, em geral, ocorrem nas áreas de cultivo convencional, enquanto que as áreas sob cultivo agroecológicas obtiveram resultados intermediários.

2.2.2. Biomassa Microbiana

A biomassa microbiana é um dos componentes que controlam funções-chaves no solo, como a decomposição e o acúmulo de matéria orgânica, e transformações envolvendo os nutrientes. Representa uma reserva natural de nutrientes, os quais são continuamente assimilados durante os ciclos de crescimento dos diferentes organismos que compõem o ecossistema.

De maneira geral, a biomassa microbiana está diretamente relacionada à quantidade de carbono orgânico presente no solo (De NOBILI et al., 2006). Costuma ser elevada em solos com vegetação natural, com teores elevados de argila ou sob cultivo mínimo, porém é geralmente baixa nos solos cultivados, arenosos, degradados pela erosão, contaminados por substâncias orgânicas tóxicas ou por metais pesados (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Em um estudo com pastagem, foi verificado que com o aumento nas doses de adubação nitrogenada diminuía a relação da biomassa fungo/bactéria no solo em relação à adubação com esterco de animais (VRIES et al., 2006). Segundo esses autores, a maior relação fungo/bactéria no solo esteve menos relacionada com a lixiviação de N no solo, o que pode ser um indicativo de maior sustentabilidade em sistemas agrícolas.

Segundo Melero et al. (2006), a adição de adubos orgânicos aumentou a biomassa microbiana de C e N em solos sob plantio de feijão e melão em sistemas orgânicos. Balota et al. (1998) verificaram que a prática do plantio direto proporciona maior biomassa microbiana e menor perda relativa de C via respiração, podendo determinar, assim, maior acúmulo de C no solo em longo prazo, evidenciando que parâmetros microbiológicos são bons indicadores de alterações do solo em função do seu manejo.

A biomassa microbiana é composta por C e diversos nutrientes como N, P, S, etc. A determinação da biomassa microbiana de C (BMC) pode ser feita por diversos métodos tais como a fumigação-extração de Jenkinson & Powlson (1976) descrito por Vance et al., (1987). Amostras fumigadas e não fumigadas são extraídas com K_2SO_4 0,5 M e filtradas na seqüência. O carbono orgânico nos dois extratos é quantificado pela oxidação com dicromato de potássio (ANDERSON e INGRAM, 1993). O C da biomassa é calculado com base na diferença entre o teor de C da amostra fumigada e na amostra não fumigada. O método de Islam e Weil (1998) emprega a irradiação com microondas em substituição à fumigação com clorofórmio. A determinação do C microbiano é feita por espectrometria na

região da luz visível, em 590 nm, e comparada com curva-padrão de sacarose, para comparação com quantidades conhecidas de C.

A biomassa associada à atividade microbiana e ao teor de carbono orgânico do solo pode ser utilizada como índice para comparar a qualidade do solo sob diferentes manejos (MELERO et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2006; BADIANE et al., 2001; BALOTA et al., 1998).

2.2.3. Atividade Microbiana

O nível de atividade microbiana e bioquímica do solo, tanto em ecossistemas naturais quanto agrícolas, tem sido utilizado como bioindicador de qualidade do solo, que permite avaliar o efeito do uso do solo sobre os microrganismos e suas funções (BADIANE et al., 2001). Em complemento às propriedades físicas e químicas do solo, as propriedades microbiológicas e bioquímicas podem auxiliar a interpretar se uma determinada prática de manejo ou recuperação de solo degradado tende à sustentabilidade (NOGUEIRA et al., 2006). De fato, a diversidade, atividade e resiliência microbiana podem ser correlacionadas com a sustentabilidade de ecossistemas agrícolas ou naturais.

Parâmetros microbiológicos como atividade e biodiversidade microbianas podem contribuir para o entendimento da relação entre plantas e a sustentabilidade de agroecossistemas (THOMAS e KEVAN, 1993; NOGUEIRA et al., 2006). A composição e a atividade da comunidade microbiana são importantes determinantes das taxas de decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes nos solos agrícolas (FREY et al., 1999). Por sua vez, os sistemas de rotação e sucessão de culturas influenciam a comunidade microbiana pela presença de determinadas espécies de plantas. Por exemplo, nos sistemas de rotação com soja/milho/trigo, sucessão milho/trigo e soja/trigo, a presença da leguminosa aumentou a atividade microbiana (ANDRADE et al., 1993).

As bactérias, em especial, são responsáveis por diversas funções metabólicas que afetam a saúde do solo e da planta. Entre as importantes funções que desempenham no solo estão a ciclagem de nutrientes, a formação e decomposição da matéria orgânica, a formação da estrutura do solo e a promoção do crescimento de plantas pela produção de hormônios vegetais (KENNEDY, 1999).

Castro et al. (1993) mostraram que no sistema de plantio direto havia maiores populações de microrganismos celulolíticos em comparação com o plantio convencional, concluindo que o sistema de manejo influencia diferencialmente o número e a

atividade de alguns grupos microbianos do solo.

O grupo dos microrganismos solubilizadores de fosfatos também é bastante disseminado no solo, sendo representado por bactérias, como as do gênero *Bacillus*, e também por fungos, como os do gênero *Aspergillus*. Entretanto, entre esses microrganismos, a maior parte atua sobre complexos de fosfatos com Ca, enquanto que poucos atuam sobre complexos de Fe e Al (GYANESHWAR et al., 2002), que são justamente os que predominam nos solos brasileiros. No entanto, esses microrganismos podem ser eficientes em solubilizar fosfatos de rocha, que é uma importante fonte de P utilizada em sistemas agroecológicos de produção agrícola.

Carneiro et al., (2004) observaram maior ocorrência de bactérias totais, fungos totais e solubilizadores de fosfato em solo sob sistema de plantio direto comparado ao solo sob plantio convencional. Isso indica que sistemas onde não há revolvimento do solo e ocorre aumento da cobertura morta ou biomassa vegetal favorecem o estabelecimento da comunidade microbiana. Nesse mesmo trabalho, os autores relataram que solos cultivados com guandu e nabo forrageiro estimularam os microrganismos solubilizadores de fosfato no solo. A quantificação desses microrganismos no solo pode ser baseada em meios artificiais de cultivos e contagem de colônias (ANDRADE, 2004).

A respiração basal representa a oxidação de compostos orgânicos presentes na amostra de solo e pode ser quantificada tanto pelo consumo de oxigênio quanto pela produção de gás carbônico (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002), sendo um método de avaliação indireta da atividade microbiana. O método consiste na incubação de amostras de solo em frasco fechado contendo hidróxido de sódio (NaOH) como armadilha para a captura do CO₂ desprendido. Após a incubação é feita titulação com ácido clorídrico do NaOH remanescente, permitindo-se quantificar o CO₂ emanado das amostras.

A razão entre a respiração microbiana diária e a biomassa microbiana de C fornece a taxa de respiração específica (coeficiente metabólico ou qCO_2) (ANDERSON e DOMSCH, 1993). Segundo esses autores, um alto valor de qCO_2 pode indicar um estado de estresse na comunidade microbiana do solo. Esse índice também é usado como um indicador do estado bioenergético da comunidade microbiana frente a alterações no ecossistema. Em seu trabalho, Melero et al (2006) observaram menores valores de qCO_2 em áreas de cultivo orgânico em comparação com áreas convencionais, indicando que nas áreas sob sistema orgânico a comunidade microbiana precisou respirar menos para manter uma unidade de biomassa microbiana, indicando uma condição menos estressante para os microrganismos.

Outro grupo microbiano importante para a reciclagem e disponibilização de nutrientes para as plantas são os fungos micorrízicos. O micélio produzido pelo fungo aumenta a capacidade da raiz em explorar o ambiente circunvizinho, auxiliando a planta na absorção de nutrientes de baixa mobilidade no solo, como P e Zn. Além disso, o micélio contribui para formação e estabilização dos agregados do solo, importantes tanto em áreas sujeitas a processos erosivos, mas também em qualquer sistema de produção agrícola. Em situações de campo, é desejável a manutenção de uma população diversificada de fungos micorrízicos, para que sejam aumentadas as chances de combinações eficientes entre fungo e hospedeiro. Dessa forma, sistemas de manejo que favoreçam o aumento do potencial de inóculo dos fungos micorrízicos, como hifas externas e esporos, são desejados.

Segundo Caravaca et al. (2002), a inoculação de fungo micorrízico em plantas de reflorestamento cultivadas em áreas degradadas na Espanha aumentou a estabilidade de agregados no solo, a biomassa de carbono, a atividade da enzima desidrogenase, o tamanho das raízes, o diâmetro e a altura das plantas. O cultivo de leguminosas altamente micorrízicas pode aumentar o potencial de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) no solo, tanto da região do cultivo como também de áreas vizinhas. Monoculturas prolongadas diminuem o potencial de inóculo natural do solo e a diversidade de espécies de FMAs, porque geralmente selecionam espécies mais adaptadas ao agrossistema, mas de eficiência simbiótica menor (COLOZZI-FILHO e CARDOSO, 2000). Esses autores encontraram maior densidade de esporos de FMAs nas entrelinhas da cultura de café consorciada com crotalária (leguminosa), mas esse benefício também foi alcançado quando as plantas invasoras foram manejadas por roçadeira nas entrelinhas da cultura. Como a maioria destas invasoras é representada por gramíneas, geralmente de sistema radicular abundante, há favorecimento da micorrização, o que possibilita que diferentes espécies de FMAs se mantenham no solo, aumentando sua diversidade.

2.2.4. Diversidade Funcional

A diversidade funcional compreende a diversidade de processos realizados pela comunidade microbiana no solo. Existe o consenso de que a diversidade microbiana está diretamente relacionada à estabilidade do ecossistema (KENNEDY, 1999). Os microrganismos do solo podem ser classificados em grupos funcionais de acordo com suas atuações nos processos biológicos do ecossistema. Exemplos desses grupos segundo Torsvik e Øvreås (2002) são os microrganismos envolvidos no ciclo do nitrogênio (diazotróficos,

nitrificantes, desnitrificantes, amonificadores) e os envolvidos no ciclo do carbono (degradadores de polímeros de carbono), como a celulose, formando o grupo funcional de celulolíticos, degradadores de amido, como os amilolíticos, de proteínas, como os proteolíticos, etc. (ANDRADE, 2004).

A diversidade de organismos em um grupo funcional pode ser interpretada como um mecanismo de continuidade dos processos biológicos, onde a perda de uma espécie seria compensada pela presença de outras, que desempenhariam a mesma “função” no sistema (KENNEDY, 1999). Isso ocorre porque organismos funcionalmente semelhantes exibem várias formas de sobrevivência, adaptando-se a diferentes condições de crescimento e suportando as adversidades de diferentes ambientes, habitats e nichos (PERRY et al., 1989). Segundo Perry et al. (1989), um solo que apresenta alta diversidade de organismos provavelmente é capaz de manter os processos ecológicos em equilíbrio, mesmo sob um ambiente em distúrbio. Essa abordagem, definida como resiliência, refere-se ao tamponamento biológico aos efeitos de distúrbios ao ecossistema. Esse tamponamento depende diretamente da biodiversidade e das interações entre os processos ecológicos realizados pelos microrganismos.

No solo, a redução da diversidade microbiana pode ser um importante indicador da perda de resiliência e, por conseqüência, da qualidade do solo. A abundância de algumas espécies de microrganismos parece não ser tão importante quanto a manutenção da diversidade, isso porque a abundância reflete de forma mais imediata a flutuação microbiana de curto prazo, enquanto a diversidade revela o equilíbrio entre os diversos organismos e os domínios funcionais no solo (KENNEDY, 1999; BRUSSAARD et al., 2007).

A diversidade de microrganismos é tão vasta quanto desconhecida. Um grama de solo pode conter 10 bilhões de microrganismos, representando milhares de espécies. Foram descobertas e nomeadas, talvez, menos de 0,1% e no máximo 10% das espécies microbianas, dependendo do hábitat estudado (ROSSELÓ-MORA e AMMAN, 2001). A principal razão para isso é que, até pouco tempo atrás, os microrganismos tinham que ser cultivados para serem identificados e, além disso, o tamanho microscópico dos microrganismos, a frequência de ocorrência das populações, a sazonalidade, e em muitos casos, a dependência de hospedeiros e/ou substratos específicos para sua sobrevivência e multiplicação também foram importantes limitações (TORSVIK e ØVREÅS, 2002).

2.3. ENZIMAS DO SOLO

As enzimas extracelulares no solo têm origem principalmente microbiana, mas também podem ser provenientes de plantas e animais (WEAVER et al., 1994). Quando a população e a dinâmica microbiana do solo são afetadas devido às práticas de manejo, também pode haver reflexos nas atividades enzimáticas do mesmo (DENG e TABATABAI, 1997). Já que as enzimas são afetadas pelo manejo do solo, pois este altera a atividade microbiana ali presente, pode existir uma relação entre atividade enzimática e conteúdo de matéria orgânica do solo. O maior conteúdo de matéria orgânica encontrado na superfície do solo coincide com a maior população de microrganismos nessa camada e também com maior atividade enzimática (BADIANE et al., 2001). Deng e Tabatabai (1996a, 1996b) mostraram que as atividades enzimáticas são maiores na camada superficial do solo e decrescem com o aumento da profundidade, correlacionando-se positivamente com o C orgânico do solo.

As atividades enzimáticas do solo têm grande potencial para fornecer uma avaliação biológica integrada, devido às estreitas relações com a comunidade microbiana, além de serem fáceis de quantificar e por responderem rapidamente às mudanças decorrentes do manejo do solo (BANDICK e DICK, 1999; DICK, 1994). Práticas tais como a adubação orgânica e diferentes sistemas de uso do solo promovem alterações na biomassa microbiana, na produção de metabólitos microbianos, nos compostos húmicos estáveis (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002) e, conseqüentemente, nas atividades enzimáticas do solo. Balota et al. (2004) investigaram a atividade de algumas enzimas do solo (amilase, celulase, arilsulfatase e fosfatase) sob sistemas de manejo convencional, plantio direto e rotação de culturas, e observaram significantes correlações entre a atividade enzimática e o C e N microbiano do solo.

As enzimas extracelulares no solo, além de serem reguladas diretamente pelos microrganismos e plantas através de sua produção e secreção, podem também ser reguladas indiretamente pelas condições físico-químicas do ambiente (SINSABAUGH, 1994). As atividades das enzimas urease e fosfatase ácida e alcalina foram menores durante o verão quando comparadas com o período de inverno, em um estudo sobre salinidade em solos da Índia, enquanto que a atividade da desidrogenase foi menor durante o inverno e maior durante a estação chuvosa (TRIPATHI et al., 2007). Nesse mesmo trabalho, o aumento da salinidade reduziu a atividade de diferentes enzimáticas, o que foi atribuído ao intenso uso do solo para agricultura e à evaporação que é mais intensa no verão, principalmente em solos com pouca cobertura vegetal.

Estudo em cultivos orgânicos com diferentes períodos de adoção (MONOKROUSOS et al., 2006) indicou que as atividades de enzimas do solo são afetadas diferentemente pelo tempo de adoção do cultivo orgânico. Por exemplo, as atividades de fosfatase ácida e alcalina foram maiores no sistema mais antigo (6 anos) devido aos maiores conteúdos de matéria orgânica nessas áreas. Já as atividades das amidohidrolases (L-asparaginase, L-glutaminase e urease) foram maiores nos sistemas intermediários (5 e 3 anos). Esse fato é atribuível ao teor de nutrientes já mineralizados no solo, pois nos sistemas mais antigos há inibição das enzimas por um efeito “feedback”, por conter o nutriente já mineralizados no caso o N, enquanto que em sistemas agroecológicos mais recentes as baixas atividades são atribuídas à falta de substrato para essas enzimas, que deixam de ser induzidas.

Em um estudo sobre a atividade da celulase houve maiores atividades em solos sob sistema de plantio direto em relação ao sistema de plantio convencional (DENG e TABATABAI,1996b). Em outro trabalho, nas mesmas áreas estudadas, os resultados foram semelhantes para a atividade das amidohidrolases (DENG e TABATABAI,1996a).

O fósforo é um nutriente essencial às plantas, sendo que a forma orgânica, dependendo do solo, pode representar a maior parte de P do solo. A enzima fosfatase é importante para a transformação do fósforo orgânico em formas inorgânicas assimiláveis pelas plantas (AMADOR et al., 1997). As atividades das fosfatases ácida e alcalina variam conforme o pH do solo. Em solos ácidos predomina a fosfatase ácida, enquanto que em solos próximos à neutralidade ou alcalinos predomina a fosfatase alcalina (TRIPATHI et al., 2007). Trabalhos mostram que a atividade da fosfatase ácida é maior em áreas nativas quando comparadas com áreas de cultivo agrícola (CARNEIRO et al., 2004; LIMA et al., 2007; OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2007), fato atribuível não apenas ao maior teor de matéria orgânica, mas também ao menor pH do solo dessas áreas.

Dentre os métodos disponíveis para se avaliar a atividade das fosfatases no solo, o método desenvolvido por Tabatabai e Bremner (1969) é o mais rápido e preciso. Este envolve a estimativa colorimétrica de p -nitrofenol liberado quando o solo é incubado em uma solução tamponada de p -nitrofenilfosfato dissódico e tolueno (WEAVER et al., 1994).

As desidrogenases são enzimas intracelulares encontradas nas membranas das células vivas. Essas enzimas fazem parte da cadeia respiratória que possui o O_2 como acceptor final de elétrons. Elas oxidam compostos orgânicos pela transferência de um par de elétrons para um acceptor, NAD ou NADP, formando o NADH ou NADPH (ROGERS e TATE, 2001). Sua atividade pode ser utilizada para se avaliar a influência de manejos na

qualidade do solo e também para avaliar o grau de recuperação de solos degradados. A desidrogenase é avaliada no solo pelo uso do cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) como acceptor final de elétrons (CASIDA et al., 1964). O TTC é reduzido através da ação da desidrogenase formando trifeniltetrazólio formazana (TTF), um precipitado vermelho e insolúvel em água, que pode ser medido espectrofotometricamente.

As atividades enzimáticas podem fornecer informações sobre os efeitos do manejo nos processos relacionados à decomposição do carbono e ciclagem de nutrientes (BALOTA et al., 2004) e assim orientar para a adoção de práticas favoráveis à sustentabilidade do agroecossistema em questão.

2.4. CARBONO NO SOLO

A matéria orgânica do solo é um importante componente do sistema solo-planta. A sua degradação pode causar baixa capacidade de retenção de água, reduzir a agregação no solo, acelerar o processo de erosão, diminuir a retenção de nutrientes e reduzir a atividade biológica e enzimática do solo. A manutenção e a promoção da matéria orgânica em sistemas agrícolas são essenciais para a sua sustentabilidade (GHANI et al., 2003).

O monitoramento dos teores de carbono orgânico no solo é uma prática necessária para se selecionar formas de manejo menos agressivas (DROZD et al., 1997). Em geral, os teores de carbono orgânico no solo diminuem após a incorporação dos ambientes naturais aos sistemas de produção agrícolas. Os carboidratos são os principais componentes lábeis da matéria orgânica, sendo assim a fração mais afetada pelo manejo do solo (CAMBARDELLA e ELLIOT, 1992). Essa fração constitui fonte de energia para a atividade microbiana (INSAN, 1996), podendo ser prontamente utilizada pelos microrganismos. Devido à sua natureza lábil, os efeitos das práticas de manejo do solo nas concentrações de carboidratos são maiores do que em relação àquelas sofridas por seus componentes mais estáveis, como as frações humificadas (PICCOLO, 1996). O teor de carboidratos solúveis no solo é analisado após sua extração em água quente, hidrólise em ácido sulfúrico na presença de Timol e quantificado por colorimetria (BALL et al., 1996).

No trabalho de Ghani et al. (2003), os carboidratos solúveis em água foram correlacionados positivamente com outras frações lábeis da matéria orgânica do solo como a biomassa microbiana de carbono e nitrogênio, carboidratos totais e a mineralização de N, indicando a dependência da entrada de matéria orgânica para a manutenção da fertilidade do solo.

Restos de plantas deixados em áreas de cultivos podem aumentar o teor de carbono orgânico, o que geralmente resulta no aumento da biomassa microbiana do solo (TRIPATHI et al., 2007). Um solo com teor elevado de matéria orgânica tende a manter a população microbiana mais estável ao longo do ano, provavelmente, em decorrência da riqueza de nichos ecológicos e pela heterogeneidade das fontes de carbono que podem ser utilizadas pelos diferentes grupos microbianos (DE FEDE et al., 2001; GRAYSTON et al., 2001).

2.5. ARGILA DISPERSA

Os resultados das análises químicas, físicas e biológicas devem ser interpretados em conjunto e não separadamente de acordo com Velasquez et al. (2007). Sob esse aspecto, as análises químicas servirão para avaliar a fertilidade do solo com relação à disponibilidade de nutrientes, as análises físicas fornecerão informações sobre a estrutura do solo e a estabilidade de agregados, enquanto as análises biológicas fornecerão informações sobre o nível de estresse em que se encontra a comunidade microbiana desse ambiente. A comunidade bacteriana, por sua vez, tem relação com a estabilidade de agregados, pois se constitui no principal grupo de microrganismos produtores de polissacarídeos extracelulares promovendo a estabilidade dos agregados do solo (DUFRANK et al., 2004), que por sua vez depende da matéria orgânica do solo (De NOBILI et al., 2006). O teor de argila dispersa em água serve como um indicativo do grau desagregação das partículas do solo e quanto o solo é susceptível a processos erosivos.

2.6. USO DE INDICADORES BIOLÓGICOS

Muitos pesquisadores têm procurado um índice para os indicadores biológicos e bioquímicos de qualidade do solo (VELASQUEZ et al., 2007; ANDREWS et al., 2004; PANIKOV, 1999). No entanto, o maior problema para o uso desses indicadores e relacioná-los com a sustentabilidade de um ecossistema é a necessidade de padrões de referência para interpretação dos resultados. Neste caso, podem-se fazer comparações com áreas nativas, que são sistemas naturalmente sustentáveis, ou ainda com áreas em que a produtividade das plantas no ambiente de estudo é maximizada numa condição considerada econômica e ambientalmente sustentável (GRANATSTEIN e BEZDICEK, 1992).

3. ARTIGO A: ATIVIDADES ENZIMÁTICAS EM SOLOS SOB SISTEMA DE PRODUÇÃO AGRÍCOLA CONVENCIONAL EM CONVERSÃO PARA AGROECOLÓGICO

RESUMO

A atividade enzimática do solo pode ser influenciada pelo seu uso e manejo. O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade de algumas enzimas como bioindicadoras de qualidade de solo na transição de sistema de cultivo convencional para agroecológico. Amostras de solo (0-10 cm) foram obtidas em áreas sob diferentes manejos e tempos de adoção do sistema agroecológico (feijão e milho de 1 a 5 anos sob sistema agroecológico), cultivo convencional de soja, milho e tabaco, além de uma área sob floresta secundária. Foram avaliadas as atividades das seguintes enzimas: desidrogenase, celulase, amilase, urease, asparaginase, glutaminase, fosfatase ácida e fosfatase alcalina. Variáveis químicas como os teores de C e N totais, N mineral ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$), P disponível, pH também foram avaliados, além da umidade no momento da amostragem. Os dados foram submetidos às análises univariada (ANOVA) e multivariada, nesse caso usando as variáveis químicas e umidade como explicativas das atividades enzimáticas. As atividades enzimáticas celulase e amilase foram maiores no solo da floresta secundária, seguidas pelas áreas com milho agroecológico e menores na área sob tabaco convencional. Já as atividades da asparaginase, glutaminase e urease foram maiores no solo da floresta secundária, seguidas pelas áreas com feijão agroecológico mais antigo e menores na área sob tabaco convencional. A atividade da desidrogenase foi menor na floresta e no tabaco convencional, e aumentou nas áreas de cultivos agroecológicos. A análise canônica correspondente (ACC) indicou que apenas o teor de C total, umidade e pH do solo influenciaram significativamente as atividades enzimáticas. A análise de componentes principais (ACP) indicou uma disposição das áreas no primeiro eixo do plano fatorial saindo dos sistemas convencionais, sendo o tabaco o mais discrepante, passando pelas áreas com feijão agroecológico, em direção à área sob floresta. De modo geral, há um estímulo, dependendo da enzima, das atividades no solo sob sistemas agroecológicos, o que indica que as áreas manejadas agroecologicamente apresentam um diferencial quanto à melhora nas condições bioquímicas do solo.

Palavras-Chave: Amidohidrolases, análise multivariada, desidrogenase, fosfatases, glicosidases.

3.1. INTRODUÇÃO

A agricultura sustentável visa suprir as necessidades do presente sem comprometer seu potencial produtivo para as próximas gerações. Práticas agrícolas racionais devem propiciar produções sustentáveis, economicamente viáveis e, ao mesmo tempo, aumentar ou manter a capacidade produtiva do solo (FERREIRA et al., 2000). Recentemente, Melero et al. (2006) avaliaram o efeito da conversão do sistema de produção agrícola convencional para orgânico e constataram que o sistema orgânico aumentou o teor de matéria orgânica, biomassa e atividades enzimáticas do solo, melhorando a qualidade e produtividade das culturas.

As atividades enzimáticas do solo têm grande potencial para fornecer uma avaliação biológica integrada, devido às estreitas relações com a biologia do solo, serem fáceis de quantificar e por responderem rapidamente às mudanças decorrentes do manejo do solo (BANDICK e DICK, 1999; DICK, 1994). Vários estudos têm apontado as atividades enzimáticas como indicadores de qualidade do solo (DENG e TABATABAI, 1997; BADIANE et al., 2001; MONOKROUSOS et al., 2006; TRIPATHI et al., 2007).

As enzimas do solo participam dos processos de decomposição dos materiais orgânicos, bem como das transformações inorgânicas no solo, são importantes para a fertilidade do solo, para as interações solo-plantas-microrganismos e para a eficiência do uso de fertilizantes. Essas atividades enzimáticas podem fornecer informações sobre os efeitos do manejo do solo nos processos relacionados com a decomposição do carbono e ciclagem de nutrientes (BALOTA et al., 2004) e assim orientar para a adoção de práticas mais favoráveis à sustentabilidade do agroecossistema.

As atividades de diferentes enzimas podem ser usadas como indicadores da qualidade do solo, uma vez que controlam a liberação de nutrientes para as plantas e para o crescimento microbiano (BURNS, 1978). São candidatas a “sensores” porque além de serem reguladas indiretamente pelo aumento da produção e secreção pelos microrganismos, podem também ser reguladas pelas condições físico-químicas do ambiente (SINSABAUGH, 1994). Entretanto, é necessário determinar um número de atividades enzimáticas representativas de um amplo espectro de funções microbianas, a fim de se representar de forma confiável a condição atual do solo (NANNIPIERI, 1994).

Como num biorreator, as condições físico-químicas governadas por propriedades tais como o teor de carbono orgânico, nitrogênio total, fósforo disponível, força iônica, pH e conteúdo hídrico influenciam na atividade enzimática do solo (AON e

COLANERI, 2001). Assim, as diferentes formas de uso e manejo podem influenciar no padrão de atividade enzimática do solo, seja por efeitos diretos nos microrganismos produtores das enzimas, seja pelas influências das condições físico-químicas em suas atividades.

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da conversão do sistema de produção agrícola convencional para o sistema agroecológico sobre a atividade de enzimas do solo relacionadas aos ciclos do C, N e P.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

A área estudada está situada no município de Palmeira-PR (25°30'S, 50°06'W), em solo originário do argilito (Neossolo litólico e Cambissolo) (EMBRAPA, 2006), cujo histórico e uso atual são apresentados na Tabela 3.1. As distâncias entre as áreas são de no máximo 720 metros.

Tabela 3.1. Características, uso anterior e manejo atual das áreas sob sistema de produção agrícola convencional, agroecológico e floresta secundária.

Sistema, tempo/ cultura (estágio)	Uso anterior	Manejo do solo/ controle de invasoras ou pragas	Adubação
Feijão 1 agr Agroecológico, ano 1/ Feijão (13 dias)	Soja convencional; milho como adubo verde.	Preparo mínimo (gradagem leve); restos culturais na superfície/ capina de tração animal.	Sem adubação.
Feijão 2 agr Agroecológico, ano 2/ Feijão (20 dias)	Milho convencional; aveia no inverno.	Preparo mínimo (gradagem leve); restos culturais na superfície/ capina manual.	Composto ^(a) (250 kg/ha) + pó de basalto (60 kg/ha) + fosfato de Gafsa (60 kg/ha) no primeiro ano.
Feijão 3 agr Agroecológico, ano 3/ Feijão (30 dias)	Soja convencional; azevém no inverno + milho como adubo verde.	Aração; restos culturais incorporados ao solo/ capina de tração animal.	Idem área 2.
Feijão 5 agr Agroecológico, ano 5/ Feijão (7 dias)	Soja, milho e tabaco convencionais, seguido de pastagem por 7 anos	Aração; restos culturais incorporados ao solo/ capina de tração animal.	Composto (1240 kg/ha), pó de basalto (60 kg/ha) + fosfato de Gafsa (20 kg/ha) na semeadura. Adubos verdes (nabo forrageiro, milho e aveia).

Continua...

Tabela 3.1. Continuação...

Sistema, tempo/ cultura (estágio)	Uso anterior	Manejo do solo/ controle de invasoras ou pragas	Adubação
Milho 3 agr Agroecológico, ano 3/ Milho (100 dias) + feijão de porco (90 d)	Soja, tabaco, milho e feijão convencionais.	Escarificação (20 cm) e niveladora (3x)/ capina de tração animal (3x).	Adubos verdes no inverno (tremoço, espérgula, ervilhaca, aveia).
Milho con Convencional / Milho (maturação)	Soja convencional, Azevém no inverno (queima).	Plantio direto/ Glifosate em pré- emergência. Priori Xtra [Azoxistrobina + Ciproconazol (8L)] + Callisto [Mesotriona (1,8L)] em pós-emergência. Karatê [Lambda Cialotrina (0,3L)] 10 d após semeadura.	Fórmula 10-20-20 (190 kg/ha) + uréia em cobertura (170 kg/ha).
Soja con Convencional (plantio direto)/ Soja (enchimento de grãos)	Tabaco convencional.	Plantio direto/ Glifosate em pré- emergência. Com 30 dias Pivot [Imazetapir] + Classic [Clorimurrom etílico]. Com 40 dias Poast [Setoxidim (2 L)] + Aramo [Tepaloxidim (0,7 L)] + Assist [Óleo mineral (2,5 L)]. Controle de pragas: Karatê [Lambda Cialotrina (150 mL)] 3 aplicações, Priori Xtra [Azoxistrobina + Ciproconazol (1,2 L)] + Dash [Ésteres metílicos (350 mL)].	Fórmula 0-20-20 (230 kg/ha).
Tabaco con Convencional (aração e gradagem)/ Tabaco (final de ciclo)	Soja, trigo convencionais e azevém.	Escarificação (20 cm) e niveladora (3x)/ Glifosate (5,5L/ alq) + Gamit [Clomazona]. Controle de pragas: Orthene [Acefato], Confidor [Ciflutrina + Imidacloprido (5-6 L/alq 2 aplicações)]. Desbrotante Presu- plus (250 mL/20 L) + Glifosate na entrelinha.	Fórmula 14-14-14 (830 kg/ha) + nitrato de sódio em cobertura (830 kg/ha).
Flor. Sec. Floresta secundária	Culturas anuais até 1986.	Reflorestado com araucária em 1986 e usado para pastejo animal. Há 5 anos sem acesso animal.	-

^(a)Composto: 1ª camada com serrapilheira (10 cm) + solo de floresta + troncos em decomposição; 2ª camada esterco de gado (240 L), esterco de suínos (60 L), esterco de carneiro (240 L), cama de peru (240 L), esterco de galinha caipira (60 L), 50 kg calcário, 50 kg fosfato de Gafsa, 50 kg pó de basalto, farinha de trigo (60 kg), soja triturada (60 kg), 200 kg resíduos do beneficiamento de feijão (grãos quebrados e carunchados), 30 kg mandioca cozida, 30 kg batata doce cozida, 5 kg de fubá de milho, 5 L de melão de cana. Após umedecimento, mistura 2X por dia por 20-25 d, mais 30 dias de estabilização sem revolvimento, peneiramento (4 mm).

A amostragem foi feita em fevereiro de 2006 (0-10 cm). Em cada área foram delimitados aleatoriamente 4 transectos de 15x5m, coletando-se 15 sub-amostras por transecto para formar uma amostra composta. Depois de peneiradas (< 4 mm), foram acondicionadas em sacos plásticos sob refrigeração a 4°C até o momento das análises enzimáticas. A umidade das amostras foi determinada gravimetricamente por secagem a 105°C 24 h⁻¹ para a expressão dos resultados em massa de solo seco. Amostras de terra também foram secas ao ar para a realização de algumas análises físico-químicas: pH em CaCl₂ 0,1M (PAVAN et al., 1992); P disponível em Mehlich I (colorimetricamente pelo método da redução do ácido ascórbico – MURPHY e RILEY, 1962); C orgânico total (YEOMANS e BREMNER, 1988), N total (BREMNER e MULVANEY, 1982) e N mineral (NH₄⁺ e NO₃⁻) (KEENEY e NELSON, 1982).

As atividades da amilase e celulase foram avaliadas pela incubação da amostra em tampão fosfato pH 5,5 na presença de tolueno e do substrato de cada enzima (solução de amido e carboximetilcelulose, respectivamente) por 24 h. Os açúcares redutores produzidos foram quantificados em espectrofotômetro pelo método do Azul da Prússia (SCHINNER e MERSI, 1990). Nas atividades da urease, asparaginase e glutaminase o solo foi incubado em solução tampão THAM com pH apropriado para cada enzima e as soluções de uréia 0,2 M, L-asparagina 0,5 M e L-glutamina 0,5 M foram usadas como substrato para a enzima correspondente (TABATABAI e BREMNER, 1972; FRANKENBERGER e TABATABAI, 1991). Após incubação a 37°C por 2 h, o N mineral foi extraído com KCl-AgSO₄ e quantificado por destilação a vapor. As atividades das fosfatases ácida e alcalina foram avaliadas com base na hidrólise do *p*-nitrofenil fosfato (0,05M) como substrato (TABATABAI e BREMNER, 1969), sendo as amostras de solo incubadas no respectivo tampão (pH 6,5 e 11) a 37°C por 1 h. Após paralisação da reação com CaCl₂ e NaOH, a mistura foi filtrada e o *p*-nitrofenol quantificado em espectrofotômetro a 420 nm. Na avaliação da atividade da desidrogenase (CASIDA et al., 1964) foi utilizado cloreto de trifetil tetrazólio (TTC) como substrato. As amostras foram incubadas com o TTC a 37°C por 24 h, seguindo-se extração com metanol e leitura do extrato a 485 nm.

O dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste Tukey a $P < 0,05$, considerando um delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. Empregou-se também a Análise das Correspondências Canônicas (ACC) utilizando os dados das análises físico-químicas como variáveis explicativas (C total, N total, N mineral, P disponível, umidade de campo e pH). A

significância das variáveis explicativas foi verificada a $P < 0,05$ pelo teste de permutações de Monte Carlo. Realizou-se também uma Análise de Componentes Principais (ACP) a fim de se observar as relações entre as variáveis explicativas significativas, as variáveis respostas (atividades enzimáticas) e as áreas de amostragem. A análise multivariada foi feita pelo programa Canoco for Windows 4.5 (BRAAK e SMILAUER, 1998).

3.3. RESULTADOS

As atividades das enzimas celulase e amilase (Tabela 3.2), relacionadas ao ciclo do carbono, foram influenciadas pelo manejo do solo/cobertura vegetal nas diferentes áreas. Os efeitos foram similares para as duas enzimas, tendo ocorrido maiores atividades no solo sob floresta secundária, seguida pela área sob milho agroecológico, enquanto que as menores atividades foram encontradas nas áreas sob cultivo agrícola, sobretudo com tabaco convencional. As atividades dessas enzimas se mantiveram menores também nas áreas recém convertidas ao sistema de cultivo agroecológico, com leve aumento nas áreas sob cultivo agroecológico de milho e feijão agroecológico há 5 anos. A atividade relativa da amilase e celulase no milho agroecológico atingiu cerca de 60% da encontrada na área sob floresta secundária, e foi menor nas demais áreas, sobretudo com tabaco (Figura 3.1A). A atividade da desidrogenase não seguiu a mesma tendência das enzimas celulase e amilase. Nesse caso, a maior atividade foi observada nas áreas sob feijão agroecológico no primeiro e no quinto ano, soja e milho convencionais, enquanto que a menor atividade ocorreu nas áreas sob floresta secundária e tabaco convencional. O maior teor de carbono orgânico total também foi encontrado no solo da floresta secundária, seguido pelas áreas há mais tempo sob conversão para o sistema agroecológico, i.e., feijão agroecológico há 5 anos e milho agroecológico há 3 anos. Por fim, os teores decresceram nas áreas sob cultivo convencional de soja e milho, nas áreas sob cultivo de feijão agroecológico mais recente e terceiro ano, atingindo o menor teor na área sob cultivo de tabaco convencional.

Tabela 3.2. Atividade das enzimas celulase, amilase e desidrogenase, e C orgânico total (C total) em solos sob conversão de sistema de cultivo convencional para agroecológico e sob floresta secundária.

Área	Celulase ($\mu\text{g A.R.}^{(a)} \text{g}^{-1}$)	Amilase ($\mu\text{g A.R.} \text{g}^{-1}$)	Desidrogenase ($\mu\text{g TTF}^{(b)} \text{g}^{-1}$)	C total (g kg^{-1})
Feijão 1 agr	293,96 c	194,57 cde	12,52 a	27,04 d
Feijão 2 agr	182,98 cd	169,68 cde	4,10 bc	21,23 e
Feijão 3 agr	232,88 cd	137,51 de	3,69 bc	19,87 e
Feijão 5 agr	345,47 c	264,57 bc	11,64 a	35,27 ab
Milho 3 agr	603,43 b	313,10 b	3,71 bc	32,44 bc
Milho con	351,73 c	250,38 bcd	7,33 ab	29,68 cd
Soja con	354,27 c	254,15 bc	12,32 a	27,55 d
Tabaco con	48,43 d	116,44 e	0,49 c	15,14 f
Flor. Sec.	1015,55 a	481,43 a	1,82 c	38,03 a
Erro padrão	$\pm 47,98$	$\pm 24,33$	$\pm 1,13$	$\pm 0,79$
CV (%)	25,19	20,07	35,55	5,83

^(a) A.R. = açúcar redutor; ^(b) Trifenil formazana; . Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

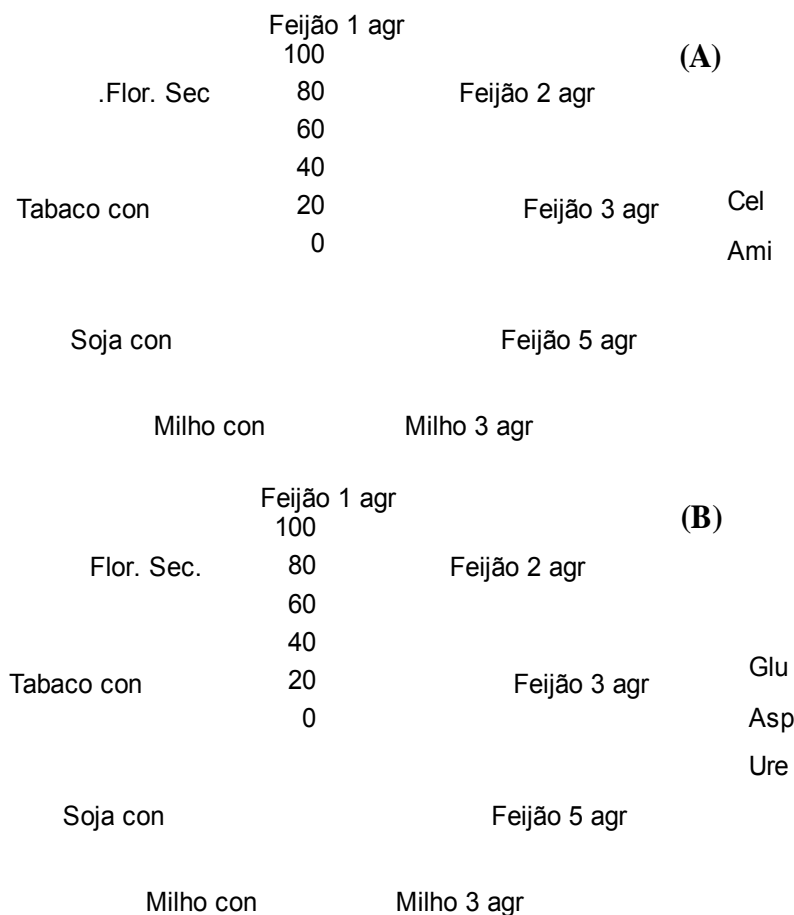


Figura 3.1. Atividade enzimática relativa (%) considerando a área sob floresta secundária (Flor. Sec.) como referência (100%). (A) Enzimas relacionadas ao ciclo do C (Cel = celulase; Ami = amilase); (B) Enzimas relacionadas ao ciclo do N (Glu = glutaminase; Asp = asparaginase; Ure = urease).

As atividades das enzimas glutaminase, asparaginase e urease (Tabela 3.3), as quais estão relacionadas ao ciclo do N, foram maiores na área sob floresta secundária e na área com feijão agroecológico há 5 anos. As menores atividades enzimáticas ocorreram na área de tabaco convencional e milho agroecológico. Para as demais áreas em manejo agroecológico, as atividades enzimáticas não diferiram daquelas observadas nas áreas sob cultivos convencionais de soja e milho, exceto para urease na área de feijão agroecológico há um ano. Considerando as áreas sob cultivo de feijão agroecológico, a atividade da urease foi a que menos sofreu decréscimo em relação à área de floresta, seguida pela glutaminase e asparaginase. Entretanto, as atividades dessas enzimas nas áreas sob milho agroecológico e tabaco convencional caíram para menos de 40% da atividade encontrada na área de floresta secundária (Figura 3.1B). O teor de N total (Tabela 4.3) seguiu a mesma tendência das atividades enzimáticas, com maior teor na área de floresta, seguido pelas áreas sob feijão agroecológico há 5 anos, milho agroecológico, cultivos convencionais de milho e soja e, finalmente, as três áreas sob cultivo de feijão agroecológico mais recente e sob cultivo convencional de tabaco. O teor de N mineral (amônio + nitrato) foi maior na área de tabaco convencional e feijão agroecológico mais antigo, e menor nas áreas de milho e soja em cultivo convencional.

Tabela 3.3. Atividade de glutaminase, asparaginase e urease, teores de N total e de N mineral (amônio + nitrato) em solos sob conversão de sistema de cultivo convencional para agroecológico e sob floresta secundária.

Área	Glutaminase ($\mu\text{g N g}^{-1}$)	Asparaginase ($\mu\text{g N g}^{-1}$)	Urease ($\mu\text{g N g}^{-1}$)	N total (g N kg^{-1})	N mineral (mg kg^{-1})
Feijão 1 agr	740,70 abc	61,57 b	118,23 a	2,41 bc	39,42 ab
Feijão 2 agr	370,73 de	45,94 bc	62,49 bc	1,80 cd	26,97 ab
Feijão 3 agr	591,42 bcd	48,04 bc	95,91 ab	1,77 cd	33,93 ab
Feijão 5 agr	825,02 ab	99,43 a	124,96 a	2,66 b	46,73 a
Milho 3 agr	206,63 e	35,04 c	44,27 c	2,63 b	30,23 ab
Milho con	517,29 cd	47,72 bc	65,55 bc	2,46 bc	11,52 b
Soja con	352,84 de	54,42 bc	49,28 c	2,31 bc	11,60 b
Tabaco con	210,67 e	33,37 c	40,65 c	1,46 d	52,87 a
Flor. Sec.	983,40 a	121,27 a	126,11 a	3,64 a	30,82 ab
Erro padrão	$\pm 61,42$	$\pm 5,50$	$\pm 44,26$	$\pm 0,16$	$\pm 6,69$
CV (%)	23,04	18,12	23,01	14,04	42,39

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

A fosfatase ácida (Tabela 3.4) apresentou maior atividade no solo sob floresta secundária seguido da área sob cultivo de feijão agroecológico há 5 anos e as áreas sob milho, tanto em sistema agroecológico como convencional. Duas áreas sob cultivo de

feijão agroecológico há 2 e 3 anos apresentaram as mais baixas atividades de fosfatase ácida, as quais não diferiram da área sob cultivo de tabaco convencional. Por outro lado, a fosfatase alcalina apresentou as maiores atividades em três áreas de feijão sob cultivo agroecológico (1, 3 e 5 anos), enquanto que a menor atividade ocorreu na área sob tabaco convencional. Os maiores teores de fósforo disponível foram encontrados nas áreas sob feijão agroecológicos (1, 2, 3 e 5 anos) e também na área sob tabaco convencional. As demais áreas apresentaram os menores teores de P disponível em Mehlich I. Os valores de pH variaram de 5,5 a 6,0 nos sistemas agroecológicos de feijão; nos três cultivos convencionais (milho, soja e tabaco) o valor foi 5,0, enquanto que os maiores índices de acidez ocorreram no cultivo agroecológico de milho e na floresta secundária. Houve maior umidade do solo na área sob floresta, seguida pelas áreas sob cultivo de feijão agroecológicos e milho convencional, soja convencional e, finalmente, a área sob tabaco convencional.

Tabela 3.4. Atividade de fosfatase ácida e alcalina, teor de P disponível, pH e umidade no momento da amostragem de solos sob conversão de sistema de cultivo convencional para agroecológico e floresta secundária.

Área	Fosfatase ácida ($\mu\text{g PNF g}^{-1}$)	Fosfatase alcalina ($\mu\text{g PNF g}^{-1}$)	Fósforo Disponível ($\mu\text{g g}^{-1}$)	pH (CaCl_2)	Umidade (%)
Feijão 1 agr	1083,5 bc	820,1 a	5,96 cd	5,75 a	28,66 bc
Feijão 2 agr	701,7 d	639,7 ab	9,48 bc	6,00 a	26,71 bc
Feijão 3 agr	703,0 d	820,6 a	17,56 a	6,00 a	25,46 bc
Feijão 5 agr	1382,0 b	855,1 a	12,06 b	5,50 a	28,12 bc
Milho 3 agr	1345,3 b	668,8 ab	1,29 d	4,25 bc	27,06 bc
Milho con	1224,1 b	695,0 ab	1,56 d	5,00 ab	29,16 b
Soja con	1107,7 bc	658,5 ab	2,40 d	5,00 ab	25,08 c
Tabaco con	860,1cd	555,8 b	8,40 bc	5,00 ab	19,19 d
Flor. Sec.	2043,5 a	717,8 ab	1,63 d	3,50 c	35,06 a
Erro padrão	$\pm 71,88$	$\pm 46,08$	$\pm 1,08$	$\pm 0,22$	$\pm 0,83$
CV (%)	12,38	12,90	32,32	5,90	6,13

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

Na análise das Correspondências Canônicas, o teste de permutações de Monte Carlo indicou que apenas as variáveis explicativas carbono total, umidade do solo, pH e fósforo disponível foram significativas em termos de contribuir para explicar as atividades enzimáticas. Entretanto, quando estas variáveis foram interpoladas no plano fatorial, a variável fósforo disponível não apresentou relação com as variáveis respostas (atividade enzimática) e por isso foi desconsiderada na análise final. Dessa forma, as três variáveis remanescentes na análise contribuíram para explicar 60,5 % da inércia total dos dados, dos

quais 74,3 % foram explicados no eixo canônico 1 e 24,7 % foram explicados no eixo canônico 2 (Figura 3.2). Considerando o plano fatorial, nota-se que as variáveis explicativas C total (Ctot) e umidade (Umi) apresentaram proximidade entre si, mas se posicionaram de maneira oposta ao pH. Por sua vez, considerando o primeiro eixo canônico, as variáveis: celulase (*Cel*), amilase (*Amil*) e fosfatase ácida (*Facid*) apresentaram maior proximidade com as variáveis explicativas C total e umidade. Por outro lado as atividades de asparaginase (*Asp*), glutaminase (*Glu*), urease (*Ure*), fosfatase alcalina (*Falc*) e desidrogenase (*Desid*) apresentaram maior relação com o pH.

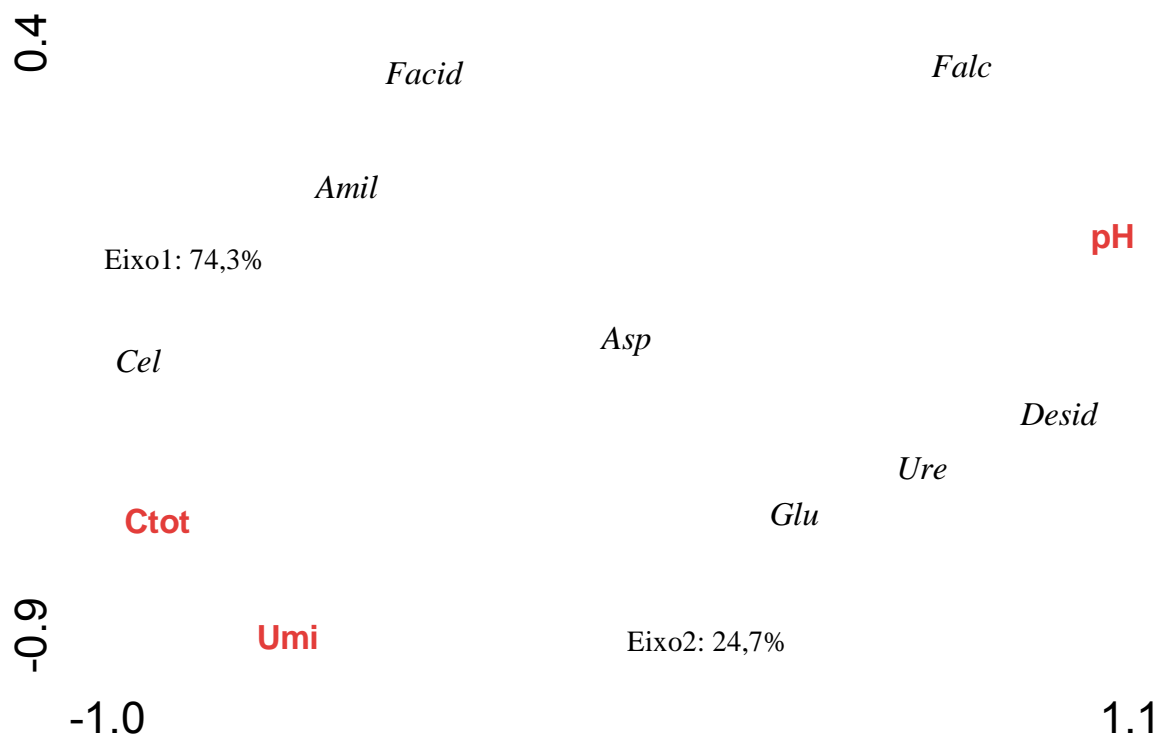


Figura 3.2. Análise Canônica Correspondente (ACC) baseada nas variáveis bioquímicas (*Facid*= Fosfatase ácida, *Falc*= Fosfatase alcalina, *Amil*= Amilase, *Cel*= Celulase, *Asp*= Asparaginase, *Glu*= Glutaminase, *Ure*= Urease e *Desid*= Desidrogenase) e nas variáveis explicativas (Ctot= Carbono total, Umi= Umidade de campo, e pH).

A análise de componentes principais (ACP) foi usada para relacionar as áreas sob diferentes usos e manejos com as atividades enzimáticas no plano fatorial. Além disso, as variáveis explicativas significativas usadas na análise anterior também foram inseridas no plano fatorial para indicar sua relação com as áreas e as atividades enzimáticas (Figura 3.3). Sendo assim, o primeiro eixo da componente principal explicou 62,1% da variabilidade, enquanto que o eixo 2 explicou 24,1%. Nota-se que a área sob floresta secundária ficou mais destacada na porção positiva do eixo 1 da componente principal,

enquanto que a área sob tabaco convencional se posicionou no outro extremo desse eixo. As demais áreas assumiram posições intermediárias ao longo do eixo 1. Essa distribuição sugere o eixo 1 como representante das formas de manejo, enquanto que o eixo 2 representa a vegetação/culturas.

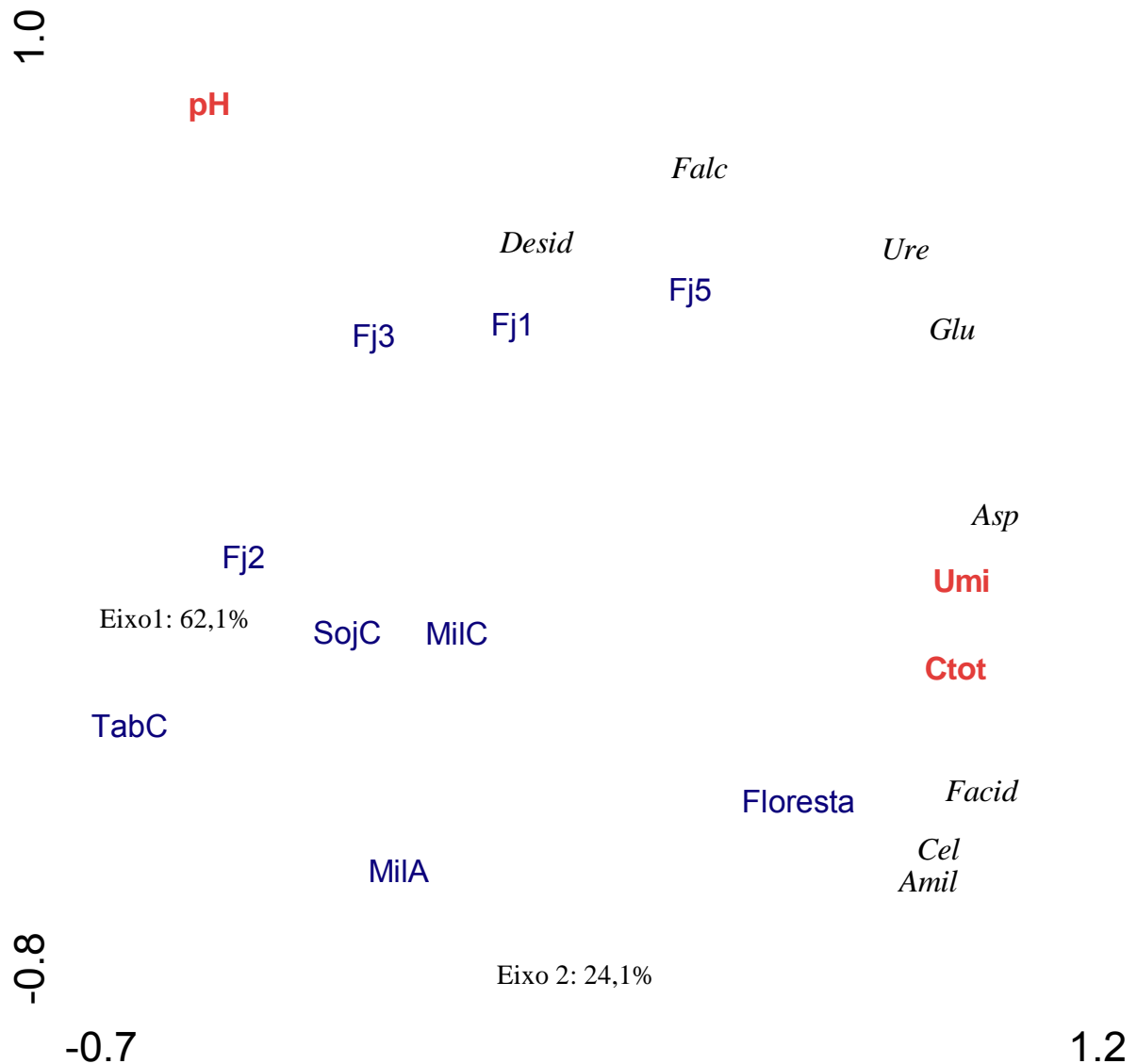


Figura 3.3. Plano fatorial da Análise dos Componentes Principais (ACP) baseada nas variáveis bioquímicas (*Facid*= Fosfatase ácida, *Falc*= Fosfatase alcalina, *Amil*= Amilase, *Cel*= Celulase, *Asp*= Asparaginase, *Glu*= Glutaminase, *Ure*= Urease e *Desid*= Desidrogenase), nas variáveis explicativas (*Ctot*= Carbono total, *Umi*= Umidade de campo, e *pH*) e nas áreas amostradas (Fj1- feijão agroecológico 1º ano; Fj2- feijão agroecológico 2º ano; Fj3- feijão agroecológico 3º ano; Fj4- feijão agroecológico 5º ano; MilA- milho agroecológico 3º ano; MilC- milho convencional; SojC- soja convencional; TabC- tabaco convencional; Floresta- fragmento de floresta secundária).

As áreas sob cultivo de feijão em sistema agroecológico se agruparam na porção positiva do eixo 1, enquanto que a área sob cultivo agroecológico de milho se posicionou no extremo negativo desse eixo. Já as áreas sob cultivo convencional de soja e milho se posicionaram na posição central. Nota-se que as enzimas celulase, amilase e fosfatase ácida se correlacionaram positivamente com a área de floresta secundária juntamente com C total e umidade de campo, enquanto que o pH se correlacionou negativamente com essa área e com as atividades dessas enzimas. Já as áreas sob cultivo agroecológico de feijão no 1º, 3º e 5º ano se correlacionaram positivamente com o pH no eixo 2 da componente principal. As enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e glutaminase, por sua vez, também apresentaram maior correlação com as áreas sob feijão em sistema agroecológico.

Ainda em relação à ACP, nota-se que as enzimas do ciclo do C (amilase e celulase), do N (asparaginase, glutaminase e urease) e a fosfatase ácida, apresentam correlação positiva com as variáveis explicativas C total e umidade do solo ao longo do eixo 1 da componente principal, o que também coincide com a área sob fragmento de floresta secundária. Por outro lado, essas variáveis apresentam uma correlação negativa em relação às áreas cultivadas, principalmente aquela sob cultivo de tabaco convencional. Nota-se, ainda, que as enzimas do ciclo do N, principalmente urease e glutaminase, apresentaram correlação negativa com a área sob cultivo de milho agroecológico. Observando-se as atividades das enzimas dos ciclos do C e do N ao longo do eixo 1 da componente principal, nota-se que estas se correlacionaram positivamente, mas apresentaram correlações inversas ao longo do eixo 2 da componente.

As enzimas relacionadas ao ciclo do P (fosfatase ácida e alcalina) se comportaram de maneira diferenciada no plano fatorial. A fosfatase alcalina se correlacionou positivamente com o pH, enquanto que a fosfatase ácida apresentou uma correlação inversa com essa variável, tendo apresentado maior correlação com as variáveis explicativas C_{tot} e umidade. Quanto às áreas, a fosfatase alcalina apresentou maior relação com aquelas sob cultivo agroecológico de feijão, principalmente a área há 5 anos sob esse tipo de manejo. Já a fosfatase ácida esteve mais relacionada com a área sob floresta. A desidrogenase também apresentou maior relação com as áreas de cultivo agroecológico de feijão, principalmente a área de feijão recém incorporada ao sistema agroecológico e relação inversa com as áreas sob milho agroecológico e tabaco convencional.

3.4. DISCUSSÃO

A cobertura vegetal e as formas de manejo do solo influenciam a atividade biológica e as condições físico-químicas do solo e, conseqüentemente, a atividade enzimática (WEAVER et al., 1994; AON et al., 2001). A adição de substâncias xenobióticas, como inseticidas, fungicidas e herbicidas, além dos fertilizantes e corretivos, pode afetar estrutural e funcionalmente a comunidade microbiana do solo (SEGHERS et al., 2003). As práticas de plantio convencional, com sucessivos revolvimentos do solo, compactação, desestabilização da estrutura, podem causar diminuição do teor de matéria orgânica e prejuízos à atividade microbiana e diminuição da atividade de algumas enzimas do solo. De acordo com Deng e Tabatabai (1996; 1997), a atividade das enzimas celulase, glutaminase, asparaginase, urease, fosfatases ácidas e alcalinas e outras, foram maiores em solos com maior entrada de matéria orgânica. Esse resultado também foi observado nesse trabalho, com maior atividade enzimática na área de floresta secundária, seguida das áreas de cultivo agroecológico de feijão há 5 anos e milho. Contudo, apesar de haver revolvimento do solo nas áreas de cultivo agroecológico, há maiores entradas de matéria orgânica pela adição de compostos orgânicos e adubações verdes, além da não adição de produtos fitossanitários e herbicidas, o que pode favorecer a comunidade microbiana do solo e a atividade enzimática.

As diferentes coberturas vegetais também podem influenciar na atividade microbiana do solo, principalmente devido ao tipo de resíduos que produzem. Como a atividade biológica é dependente, em última análise, das fontes de energia na forma de carbono orgânico que entram no solo, espera-se que áreas que recebam maiores entradas de material orgânico, não apenas em quantidade, mas também em diversidade, sejam mais propensas a ter maior atividade biológica e, por conseguinte, maior atividade enzimática. Badiane et al. (2001) encontraram que no solo há mais tempo sob pousio sem revolvimento e com maior diversidade de plantas, havia maiores atividades enzimáticas e maior biomassa microbiana. Assim, neste trabalho, o solo sob floresta secundária apresentou maior atividade das enzimas hidrolíticas que atuam no ciclo do carbono (celulase e amilase), nitrogênio (asparaginase, glutaminase e urease) e fósforo (fosfatase ácida) por apresentar maior diversidade de plantas e conseqüentemente diversidade de matéria orgânica sendo incorporada ao solo. As demais áreas apresentaram menores atividades dessas enzimas. Entretanto, houve uma tendência de as áreas sob cultivo agroecológico apresentarem atividades mais elevadas de algumas enzimas, principalmente nas áreas sob feijão em sistema agroecológico mais antigo, quando se compara aos sistemas sob cultivo convencional,

principalmente o tabaco, como mostra a ACP. No caso do milho sob sistema agroecológico, a atividade das enzimas relacionadas ao ciclo do N foi tão baixa quanto as encontradas no solo sob cultivo de tabaco convencional, considerado o mais impactante devido ao intenso revolvimento e exposição do solo durante seu preparo, baixa diversidade vegetal, grande aporte de fertilizantes industrializados e produtos químicos aplicados frequentemente sobre a cultura e a ausência de cobertura do solo por resíduos vegetais durante o cultivo. A área sob milho em cultivo agroecológico tem em comum com a área sob tabaco, a forma de preparo do solo para a instalação da cultura e o revolvimento do solo nas entrelinhas para o controle de plantas invasoras após o estabelecimento das culturas. Entretanto, quando consideradas as enzimas do ciclo do C, a área sob milho em sistema agroecológico apresentou a segunda maior atividade enzimática. As áreas sob cultivo convencional (soja, milho e tabaco) apresentaram, em geral, as menores atividades enzimáticas, como também mostrou a análise dos componentes principais. Estudo de Monokrousos et al. (2006) em solos sob cultivos orgânicos com diferentes épocas de adoção, indicou que as atividades enzimáticas do solo foram afetadas diferentemente conforme a época de adoção do cultivo orgânico, apresentando maiores atividades, em geral, no sistema mais antigo, como corroboram os resultados aqui apresentados.

Dentre as variáveis químicas que foram avaliadas e consideradas na ACC como variáveis explicativas da variação da atividade enzimática do solo, apenas o C_{total} , umidade e pH foram significativas. O fato de C_{total} e umidade estarem proximamente relacionados no plano fatorial da ACC deve-se à relação direta entre o conteúdo de água no solo e o seu teor de matéria orgânica. Sendo assim, essas variáveis contribuíram para influenciar mais intensamente a atividade das enzimas relacionadas não apenas ao ciclo do C (celulase e amilase), mas também a fosfatase ácida e a asparaginase (P e N, respectivamente). A maior relação da variável explicativa pH com a atividade de fosfatase alcalina é justificável pelo fato de que um aumento do valor de pH resulta em aumento da atividade da fosfatase alcalina, como ocorreu nas áreas sob cultivo agroecológico de feijão. Apesar de o teor de N total e N mineral ter variado entre as áreas, como demonstrou o resultado da análise univariada (ANOVA), não houve efeito sobre as atividades enzimáticas com base na análise multivariada (ACC). O teor mais elevado de N mineral na área sob cultivo de tabaco é atribuível às adubações nitrogenadas realizadas durante o ciclo da cultura na forma de fertilizante mineral. Quando se considerou o N total, essa área foi a que apresentou os menores teores. Isso indica que o estoque de N na forma orgânica nesse solo é baixo e que o fornecimento à cultura depende de aportes externos por se tratar de um sistema aberto, em que

a ciclagem do N é ineficiente (BRUSSAARD et al., 2004). Trabalhos anteriores (MUMMEY et al., 2002; NOGUEIRA et al., 2006) indicaram que a maior disponibilidade de N mineral em áreas agrícolas reflete numa ciclagem ineficiente do nutriente nesse sistema, o qual fica exposto a perdas por desnitrificação e/ou lixiviação, uma vez que a forma predominante é a nítrica. Por outro lado, as áreas sob cultivo agroecológico, principalmente o feijão agroecológico há cinco anos, também apresentam altos teores de N mineral disponível. Entretanto, diferentemente da área sob tabaco, a área sob cultivo agroecológico apresenta maior teor de carbono total, o que possibilita maior biomassa e atividade microbiana, fazendo com que o N mineral do solo seja imobilizado pelas células microbianas e fique protegido dos processos de perdas.

A enzima desidrogenase é comumente usada como indicadora da atividade da porção ativa da comunidade microbiológica do solo (CASIDA, 1977). Quanto maior o fluxo de elétrons decorrente da cadeia respiratória, maior a atividade enzimática. Entretanto, esta atividade não necessariamente está diretamente relacionada com a quantidade de biomassa microbiana do solo. Neste estudo, mesmo com a maior biomassa microbiana de C ($621 \mu\text{g g}^{-1}$, dados apresentados no capítulo 4, p.46), o solo sob fragmento de floresta secundária apresentou uma das mais baixas atividades da desidrogenase. Isso indica que as células microbianas presentes naquele ambiente são mais eficientes metabolicamente, precisando de um menor nível de respiração para manter uma maior quantidade de biomassa, o que coincide com o menor índice de quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) ($2,5 \eta\text{g C } \mu\text{g}^{-1} \text{C-biomassa h}^{-1}$, dados apresentados no capítulo 4, p.46). A atividade dessa enzima na área de floresta foi comparável à encontrada na área sob cultivo de tabaco convencional. Entretanto, a área com tabaco apresentou a menor biomassa microbiana de C ($215 \mu\text{g g}^{-1}$, dados apresentados no capítulo 4, p.46) e o maior índice de $q\text{CO}_2$ ($8 \eta\text{g C } \mu\text{g}^{-1} \text{C-biomassa h}^{-1}$, dados apresentados no capítulo 4, p.46). Isso indica que a baixa atividade de desidrogenase na área sob tabaco convencional foi menor devido à menor biomassa de microrganismos presentes, diferentemente da área sob fragmento florestal, indicando que a baixa atividade de desidrogenase, na presença da maior biomassa microbiana, representa maior eficiência metabólica dos microrganismos nessa área (ANDERSON e DOMSCH, 1993). Essa pode ser a explicação ao fato de que muitos autores consideram que a atividade da desidrogenase não é um bom indicador da atividade biológica do solo. Pelos resultados aqui apresentados, sua interpretação deve ser cautelosa e integrada com os dados de biomassa microbiana de C, respirometria e coeficiente metabólico. As mais altas atividades da desidrogenase foram

encontradas nos solos sob milho e soja convencionais, feijão agroecológico há 1 ano e feijão agroecológico há 5 anos. É possível que a atividade dessa enzima seja estimulada pelo revolvimento do solo, como as capinas com tração animal nas entrelinhas do feijoeiro recém realizadas nas áreas de feijão agroecológico, que acabam por estimular a atividade biológica. Com o aumento da oxigenação do solo há um estímulo da atividade microbiana ali presente que também responde positivamente ao aumento da matéria orgânica no solo (DENG e TABATABAI, 1996).

O fósforo é um nutriente essencial às plantas, sendo que a forma orgânica, dependendo do solo, pode representar a maior parte do P total do solo. A enzima fosfatase é importante para a transformação do fósforo orgânico em formas inorgânicas assimiláveis pelas plantas (AMADOR et al., 1997). As atividades das fosfatases ácida e alcalina variam conforme o pH do solo (TABATABAI e BREMNER, 1969). Em solos ácidos predomina a fosfatase ácida, enquanto que em solos próximos à neutralidade predomina a fosfatase alcalina (TRIPATHI et al., 2007). As atividades das fosfatases encontradas neste estudo podem ser correlacionados com o pH do solo, onde a fosfatase ácida foi maior no solo de floresta, a qual possui um pH em torno de 3,5 e também onde se espera maior entrada de compostos orgânicos, aumentando quantidade de substrato para a enzima. Por outro lado, a atividade da fosfatase alcalina foi maior nos solos sob cultivo de feijão agroecológico onde o pH é maior devido à calagem feita nas áreas. A menor atividade das fosfatases no solo sob tabaco convencional pode ser pelo fato de o solo apresentar os menores teores de matéria orgânica, e conseqüentemente, menor disponibilidade de substrato para a enzima (MONOKROUSOS et al., 2006). Não houve um efeito aparente da disponibilidade de P sobre a atividade das fosfatases ou qualquer outra enzima, conforme revelado pela ACC. Em se tratando de atividade enzimática, poderia se esperar uma inibição da atividade das fosfatases pela presença do produto da reação, ou seja, os íons fosfato (BURNS, 1978). Entretanto, é preciso considerar que o extrator de P usado nesse trabalho foi a solução de ácidos diluída Mehlich I, a qual superestima a disponibilidade de P quando o solo recebe formas de baixa solubilidade de P como os fosfatos de rocha aplicados nas áreas sob cultivo agroecológico.

A ACP indicou que as atividades enzimáticas se correlacionaram positivamente com eixo 1 da componente principal, a qual identifica a variabilidade causada pelo manejo do solo e explica a maior parte da variabilidade total dos dados. Por outro lado, o eixo 2, que representa a variabilidade causada pela cobertura vegetal/culturas, separou as atividades das enzimas envolvidas no ciclo do N daquelas envolvidas no ciclo do C. Com esses resultados podemos concluir que o manejo do solo afeta simultaneamente as atividades

enzimáticas do solo, mas a cobertura vegetal/culturas resulta em um comportamento diferenciado dessas enzimas. Quanto às enzimas relacionadas ao ciclo do N, as maiores atividades ocorreram nas áreas sob cultivo de feijão em sistema agroecológico há 1, 3 e 5 anos. Por outro lado, quando consideradas as enzimas do ciclo do C (celulase e amilase), a área sob milho agroecológico apresentou maior correlação com essas enzimas, considerando o eixo 2 da componente principal. Esse comportamento evidencia uma tendência de que sistemas manejados agroecologicamente por mais tempo tenderem a se aproximar mais das condições de um ambiente natural. É evidente que condição idêntica a um sistema natural não pode ser restabelecida por uma área agrícola, mas uma aproximação de alguns parâmetros sugere que o manejo agroecológico apresenta menor interferência na ciclagem do C e N no solo e, conseqüentemente, tende à maior sustentabilidade.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient from CO₂ (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 25, p. 393-395, 1993.
- AMADOR, J.A.; GLUCKSMAN, A.M.; LYONS, J.B.; GORRES, J.H. Spatial distribution of soil phosphatase activity within a riparian forest. **Soil Science**, v.162, p.808-825, 1997.
- AON, M.A.; COLANERI, A.C. II. Temporal and spatial evolution of enzymatic activities and physico-chemical properties in an agricultural soil. **Applied Soil Ecology**, v.18, p.255-270, 2001.
- BADIANE, N.N.Y.; CHOTTE, J.L.; PATE, E.; MASSE, D.; ROULAND, C. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. **Applied Soil Ecology**, v.18, p.229-238, 2001.
- BALOTA, E.L.; KANASHIRO M. ; COLOZZI FILHO A.; ANDRADE D.S; DICK R.P. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agroecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 35, p. 300-306, 2004.
- BANDICK, A.K.; DICK, R.P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry**, v.31, p.1471-1479, 1999.

BREMNER, J.M.; MULVANEY, C.S. Nitrogen-total. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (eds.). *Methods of soil analysis, part 2: Chemical and microbiological properties*. Madison: **American Society of Agronomy**, p.595-624, 1982.

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

BRUSSAARD, L.; KUYPER, T.W.; DIDDEN, W.A.M.; de GOEDE, R.G.M.; BLOEM, J. **Biological soil quality: from biomass to biodiversity – importance and resilience to management stress and disturbance**. In: SCHJONNING, P., ELMHOLT, S., CHRISTENSEN, B.T. (Eds.), *Managing Soil Quality: Challenges in Modern Agriculture*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 139-161. 2004.

BURNS, R. G. **Soil enzymes**. Academic Press, New York, 1978, 364 p.

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

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

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

DENG, S.P.; TABATABAI, M.A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: I. Amidohydrolases. **Biology and Fertility of Soils**, v.22, p.202-207, 1996.

DENG, S.P.; TABATABAI, M.A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: II. Glycosidases. **Biology and Fertility of Soils**, v.22, p.208-213, 1996.

DICK, R.P. **Soil enzyme activities as indicators of soil quality**. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. *Defining soil quality or a sustainable environment*. Soil Science Society of America Journal, Madison, p.107-124, 1994.

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

FERREIRA, M.C.; ANDRADE, D.S.; CHEIRA, L.M.O.; TAKEMURA, S.; HUNGRIA, M. Tillage method and crop rotation effects on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. **Soil Biology and Biochemistry**, 32, p. 627-637, 2000.

FRANKENBERGER, W.T.; TABATABAI, M.A. Asparaginase activity of soils. **Biology and Fertility of Soils**, v.11, p.6-12, 1991.

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

MELERO, S.; PORRAS, J. C. R.; HERENCIA, J. F.; MADEJON, E. Chemical and biochemical properties in a silty loam soil under conventional and organic management. **Soil and Tillage Research**, v. 90, p. 162-170, 2006.

MONOKROUSOS, N.; PAPTAEODOROU, E.M.; DIAMANTOPOULOS, J.D.; STAMOU, G.P. Soil quality variables in organically and conventionally cultivated field sites. **Soil Biology and Biochemistry**, v.38, p. 1282-1289, 2006.

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

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

NANNIPIERI, P. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, D.M.; GUPTA, V.V.S.R.; GRACE, P.R. **Soil biota: management in sustainable farming systems**. CSIRO, Australia, p. 238-244, 1994.

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

PAVAN, M.A.; BLOCH, M.F.; ZEMPULSKI, H.C.; MIYAZAWA, M.; ZOCOLER, D.C. **Manual de análise química do solo e controle de qualidade**. Londrina: IAPAR, Circular técnica, nº76, 1992, 40 p.

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

SEGHERS, D.; VERTHÉ, K.; REHEUL, D.; BULKE, R.; SICILIANO, S.D.; VERSTRAETE, W.; TOP, E.M. Effect of long-term herbicide applications on the bacterial

community structure and function in an agricultural soil. **FEMS Microbial Ecology**, v.46, p.139-146, 2003.

SINSABAUGH, R.L. Enzymatic analysis of microbial pattern and process. **Biology and Fertility of Soils**, v.17, p.69-74, 1994.

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

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

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

YEOMANS, J.C.; BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.19, p.1467-1476, 1988.

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

4. ARTIGO B: INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE QUALIDADE DO SOLO SOB SISTEMA DE PRODUÇÃO AGRÍCOLA CONVENCIONAL EM CONVERSÃO PARA AGROECOLÓGICO

RESUMO

Os microrganismos e os processos microbianos realizados no solo são essenciais nos ecossistemas terrestres, atuando na decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e alterando as propriedades físicas e químicas do solo, com resultados diretos na sua fertilidade. O objetivo desse trabalho foi avaliar indicadores microbiológicos de qualidade de solo na transição de sistema de cultivo agrícola convencional para agroecológico. Amostras de solo foram obtidas em áreas sob feijão e milho com diferentes tempos de adoção do sistema agroecológico (1 a 5 anos), áreas sob cultivo convencional de soja, milho e tabaco, além de uma área sob fragmento de floresta secundária. Foram avaliados alguns grupos funcionais de microrganismos, comprimento de hifa de fungos filamentosos, densidade de esporos de fungos micorrízicos, taxas de amonificação e nitrificação, biomassa microbiana de carbono e nitrogênio, respirometria, carboidratos solúveis em água quente, qCO_2 e argila dispersa em água. Em geral, os microrganismos cultiváveis ocorreram em maiores quantidades nos solos agrícolas do que no solo sob floresta secundária. As biomassas de C e N do solo, juntamente com o teor de carboidratos e taxa de amonificação, foram maiores na área florestal, menores na área de tabaco e intermediárias nas demais áreas. Já a taxa de nitrificação foi menor sob floresta e tabaco, tendo sido mais intensa nas demais áreas agrícolas. Algumas das variáveis obtidas sob sistema agroecológico se aproximaram daquelas encontradas em áreas sob vegetação nativa, mas outras foram semelhantes às encontradas em áreas de cultivo convencional. A análise canônica correspondente (ACC) indicou que apenas o pH, umidade e N total do solo apresentaram efeitos significativos sobre as variáveis microbiológicas não dependentes de cultivo. Já as variáveis microbianas dependentes de cultivo não foram influenciadas pelas variáveis explicativas, segundo o teste de Monte Carlo. A análise de componentes principais (ACP) indicou que as áreas sob feijão em sistema agroecológico apresentaram maiores similaridades entre si, o mesmo aconteceu com as áreas de milho agroecológico e tabaco convencional, enquanto que as áreas sob cultivo convencional de milho e soja, e floresta secundária apresentaram maiores dissimilaridades. Quando parâmetros microbianos relacionados ao ciclo do C e N foram analisados na ACP, as áreas sob cultivo agroecológico de feijão apresentaram novamente maiores similaridades

entre si, o mesmo acontecendo entre as áreas sob cultivos convencionais e milho agroecológico. A floresta secundária novamente se mostrou mais dissimilar entre as áreas avaliadas. De modo geral, os bioindicadores baseados em processos microbianos relacionados aos ciclos do C e N permitiram uma maior distinção entre as áreas diferencialmente manejadas do que os métodos baseados em cultivos microbianos.

Palavras-Chave: Análise Multivariada, biomassa microbiana, carboidratos do solo, grupos funcionais de microrganismos.

4.1. INTRODUÇÃO

Indicadores microbiológicos de qualidade de solo, principalmente os relacionados aos ciclos do carbono (C) e nitrogênio (N), são úteis para avaliar o efeito do manejo do solo e seu impacto na sustentabilidade dos agroecossistemas (BADIANE et al., 2001; NOGUEIRA et al., 2006). Em áreas tropicais e subtropicais úmidas, as entradas de C no solo, provenientes dos resíduos das culturas, são geralmente menores do que na floresta nativa. Dessa forma, há menos compostos de C à disposição dos microrganismos, o que pode alterar os ciclos biogeoquímicos no solo (BADIANE et al., 2001). Além das alterações na quantidade e qualidade do carbono que retornam ao solo, práticas agrícolas como o uso de herbicidas, fungicidas, inseticidas, fertilizantes químicos, revolvimento do solo e monocultura podem influenciar negativamente as comunidades microbianas do solo (DINESH et al., 2003). Conseqüentemente, os processos por elas realizados, como a decomposição e ciclagem de nutrientes, degradação de poluentes e supressão de microrganismos nocivos e patogênicos também podem ser prejudicados (DORAN e ZEISS, 2000). Além do mais, a comunidade microbiana responde sensivelmente às práticas de manejo e ao clima, por isso pode ser usada como bioindicadora do uso do solo e dos efeitos das atividades humanas sobre os ambientes naturais (BRUSSAARD et al., 2004).

A composição e a atividade da comunidade microbiana influenciam nas taxas de decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes nos solos agrícolas (FREY et al., 1999). As entradas de N no solo dos ecossistemas naturais, seja pela fixação biológica e/ou deposição atmosférica, são geralmente pequenas, de forma que o N precisa ser reciclado eficientemente (MUMMEY et al., 2002).

As biomassas microbianas de C e N, representantes da parte viva do C e N do solo, são sensíveis às ações antrópicas e estão relacionadas com o teor de carbono orgânico

no solo (LI et al., 2004; De NOBILI et al., 2006). A biomassa microbiana pode responder mais rapidamente às mudanças decorrentes da forma de uso e manejo do solo do que o teor de matéria orgânica total, sendo por isso considerada um indicador mais sensível. Além de revelar os efeitos diretos sobre a comunidade microbiana, permite também avaliar os efeitos do manejo do solo sobre o ciclo do C e nutrientes por ela intermediados (BADIANE et al., 2001; BALOTA et al., 1998). Além disso, a biomassa microbiana constitui um reservatório de nutrientes no solo, os quais podem ser mineralizados e disponibilizados às plantas (SINGH et al., 1989).

Muitas etapas da ciclagem de nutrientes são realizadas exclusivamente por microrganismos, sendo que alguns podem participar de um ou mais ciclos biogeoquímicos (ANDRADE, 2004). Aqueles que desempenham um mesmo papel nas transformações de um determinado elemento no solo, ainda que de diferentes espécies, formam o que se chama grupo funcional (ANDRADE e NOGUEIRA, 2005). É certo que somente uma pequena porcentagem da comunidade microbiana do solo é capaz de se desenvolver em meio de cultura artificial (ROSSELÓ-MORA e AMMAN, 2001). Mesmo assim, sendo considerada uma amostra da comunidade microbiana total, podem-se obter informações para o monitoramento dos efeitos do uso do solo sobre esses microrganismos e inferir sobre os potenciais efeitos na ciclagem de nutrientes e na fertilidade do solo. Além do carbono do solo, o nitrogênio é o elemento mais afetado pela atividade microbiana, sujeito a várias transformações, como a amonificação, nitrificação e desnitrificação (INSAN et al., 1996). Grande parte de outros nutrientes, como o fósforo e o enxofre, também está presente no solo na forma orgânica, dependendo da ação microbiana para serem disponibilizados às plantas e aos próprios microrganismos.

A avaliação da perda de carbono orgânico do solo é uma prática necessária para se selecionar formas de manejo menos agressivas (DROZD et al., 1997). Os carboidratos são os principais componentes lábeis da matéria orgânica do solo (CAMBARDELLA e ELLIOT, 1992), sendo assim a fração mais afetada pela utilização do solo, além de serem fontes de energia e carbono para a atividade microbiana.

O objetivo desse trabalho foi avaliar as alterações que ocorrem no solo, decorrentes da conversão do sistema de produção agrícola convencional para agroecológico, pelo uso de alguns indicadores microbiológicos de qualidade de solo baseados em cultivo microbiano em meios artificiais e em processos microbianos relacionados aos ciclos do C e N no solo.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

As áreas de estudo estão situadas no município de Palmeira-PR (25°30'S, 50°06'W), em solo Neossolo litólico e Cambissolo associados (EMBRAPA, 2006) originário do argilito, cujas características no que se refere ao uso do solo e ao manejo das culturas estão apresentadas na Tabela 4.1. Todas as amostras sob as diferentes formas de uso e manejo estão em um círculo de 320 m de diâmetro, em propriedades agrícolas de caráter familiar.

Tabela 4.1. Características, uso anterior e manejo atual das áreas sob sistema de produção agrícola convencional, agroecológico e floresta secundária.

Sistema, tempo/ cultura (estágio)	Uso anterior	Manejo do solo/ controle de invasoras ou pragas	Adubação
Feijão 1 agr Agroecológico, ano 1/ Feijão (13 dias)	Soja convencional; milho como adubo verde.	Preparo mínimo (gradagem leve); restos culturais na superfície/ capina de tração animal.	Sem adubação.
Feijão 2 agr Agroecológico, ano 2/ Feijão (20 dias)	Milho convencional; aveia no inverno.	Preparo mínimo (gradagem leve); restos culturais na superfície/ capina manual.	Composto ^(a) (250 kg/ha) + pó de basalto (60 kg/ha) + fosfato de Gafsa (60 kg/ha) no primeiro ano.
Feijão 3 agr Agroecológico, ano 3/ Feijão (30 dias)	Soja convencional; azevém no inverno + milho como adubo verde.	Aração; restos culturais incorporados ao solo/ capina de tração animal.	Idem área 2.
Feijão 5 agr Agroecológico, ano 5/ Feijão (7 dias)	Soja, milho e tabaco convencionais, seguido de pastagem por 7 anos	Aração; restos culturais incorporados ao solo/ capina de tração animal.	Composto (1240 kg/ha), pó de basalto (60 kg/ha) + fosfato de Gafsa (20 kg/ha) na semeadura. Adubos verdes (nabo forrageiro, milho e aveia).
Milho 3 agr Agroecológico, ano 3/ Milho (100 dias) + feijão de porco (90 d)	Soja, tabaco, milho e feijão convencionais.	Escarificação (20 cm) e niveladora (3x)/ capina de tração animal (3x).	Adubos verdes no inverno (tremoço, espegula, ervilhaca, aveia).
Milho con Convencional / Milho (maturação)	Soja convencional, Azevém no inverno (queima).	Plantio direto/ Glifosate em pré-emergência. Piori [Azoxistrobina + Ciproconazol (8L)] + Callisto [Mesotriona (1,8L)] em pós-emergência. Karatê [Lambda Cialotrina (0,3L)] 10 d após semeadura.	Fórmula 10-20-20 (190 kg/ha) + uréia em cobertura (170 kg/ha).

Continua...

Tabela 4.1. Continuação...

Sistema, tempo/ cultura (estágio)	Uso anterior	Manejo do solo/ controle de invasoras ou pragas	Adução
Soja con Convencional (plantio direto)/ Soja (enchimento de grãos)	Tabaco convencional.	Plantio direto/ emergência. Com 30 dias Pivot [Imzetapir] + Classic [Clorimurrom etílico]. Com 40 dias Poast [Setoxidim (2 L)] + Aramo [Tepaloxidim (0,7 L)] + Assist [Óleo mineral (2,5 L)]. Controle de pragas: Karatê [Lambda Cialotrina (150 mL)] 3 aplicações, Priori Xtra [Azoxistrobina + Ciproconazol (1,2 L)] + Dash [Ésteres metílicos (350 mL)].	Fórmula 0-20-20 (230 kg/ha).
Tabaco con Convencional (aração e gradagem)/ Tabaco (final de ciclo)	Soja, trigo convencionais e azevém.	Escarificação (20 cm) e niveladora (3x)/ Glifosate (5,5L/ alq) + Gamit [Clomazona]. Controle de pragas: Orthene [Acefato], Confidor [Ciflutrina + Imidacloprido (5-6 L/alq 2 aplicações)]. Desbrotante Presu- plus (250 mL/20 L) + Glifosate na entrelinha.	Fórmula 14-14-14 (830 kg/ha) + nitrato de sódio em cobertura (830 kg/ha).
Flor. Sec. Floresta secundária	Culturas anuais até 1986.	Reflorestado com araucária em 1986 e usado para pastejo animal. Há 5 anos sem acesso animal.	-

^(a)Composto: 1ª camada com serrapilheira (10 cm) + solo de floresta + troncos em decomposição; 2ª camada esterco de gado (240 L), esterco de suínos (60 L), esterco de carneiro (240 L), cama de peru (240 L), esterco de galinha caipira (60 L), 50 kg calcário, 50 kg fosfato de Gafsa, 50 kg pó de basalto, farinha de trigo (60 kg), soja triturada (60 kg), 200 kg resíduos do beneficiamento de feijão (grãos quebrados e carunchados), 30 kg mandioca cozida, 30 kg batata doce cozida, 5 kg de fubá de milho, 5 L de melão de cana. Após umedecimento, mistura 2X por dia por 20-25 d, mais 30 dias de estabilização sem revolvimento, peneiramento (4 mm).

A amostragem foi realizada em fevereiro de 2006 (0-10 cm). Em cada área (9 no total), representativa de cada forma de uso e manejo do solo, foram delimitados aleatoriamente 4 transectos de 15x5m, coletando-se 15 sub-amostras por transecto para formar uma amostra composta. Depois de peneiradas (< 4 mm), foram mantidas a 4°C até o momento das análises microbiológicas. A umidade das amostras foi determinada gravimetricamente por secagem a 105°C 24 h⁻¹ para a expressão dos resultados em solo seco. As análises químicas e de argila dispersa em água foram realizadas em solo seco ao ar (TFSA).

A estimativa dos grupos funcionais de microrganismos celulolíticos, amilolíticos, proteolíticos, bactérias esporulantes e heterotróficas, solubilizadores de fosfato, actinomicetos e fungos totais foi feita por diluição seriada e plaqueamento em meio de cultura específico para cada grupo funcional (ANDRADE, 2004). Os resultados foram expressos em escala logarítmica do número de unidades formadoras de colônia por grama de solo seco ($\log \text{UFC g}^{-1}$). As mesmas diluições seriais foram utilizadas para estimar os grupos funcionais de microrganismos amonificadores (SARATHCHANDRA, 1978), nitrificadores (oxidantes de amônio e de nitrito) (SCHMIDT e BELSER, 1994) e protozoários (INGHAM, 1994) pela técnica do número mais provável (NMP) (WOOMER, 1994), com inoculação em tubos múltiplos em quintuplicata. Os resultados foram expressos em \log do NMP g^{-1} de solo seco.

Para a estimativa do comprimento de hifas de fungos filamentosos, cinco gramas de solo úmido foram incubados por 40 min em uma solução de pirofosfato de sódio a 2%, usada como dispersante. Após seqüência de agitações, peneiramentos e diluições, as hifas foram filtradas sobre uma membrana de nitrocelulose quadriculada e contadas sob microscópio óptico invertido (ANDRADE et al., 1997). Para a quantificação da densidade de esporos de fungos micorrízicos no solo, vinte gramas foram incubados com a solução dispersante, extraídos por peneiramento úmido seguido de centrifugação em sacarose (GERDEMANN e NICOLSON, 1963) e contados sob microscópio estereoscópico no aumento de 40x.

A taxa de amonificação ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) foi avaliada com base no teor de N mineral na amostra antes e depois da incubação de 100 g de solo em frasco hermeticamente fechado a 28°C por 21 dias. A taxa de nitrificação (%) foi baseada na conversão de N amoniacal fornecido à amostra para nitrato em 21 dias de incubação, considerando o amônio adicionado e o mineralizado da matéria orgânica, bem como os teores iniciais e finais de nitrato na amostra (SCHUSTER e SCHRODER, 1990).

As biomassas microbianas de C e N foram estimadas por fumigação-extração (VANCE et al., 1987). Uma alíquota de 25 g de amostra foi fumigada por 24 h a 25°C com clorofórmio, enquanto uma alíquota da mesma amostra não fumigada foi mantida nas mesmas condições. Após a incubação, o carbono orgânico das duas alíquotas foi extraído e quantificado pela oxidação com $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (ANDERSON e INGRAM, 1993). O C da biomassa microbiana (CBM) foi calculado com base na diferença entre o teor de C da amostra fumigada e o da amostra não fumigada, utilizando-se um fator $K_c = 0,33$. Numa alíquota dos mesmos extratos foi feita a quantificação do N após digestão sulfúrica. O N da biomassa microbiana (NBM) foi calculado considerando um fator $K_n = 0,68$ (BROOKES et al., 1985).

A respiração basal foi avaliada em 100 g da amostra em frasco hermeticamente fechado contendo 20 mL de uma solução de NaOH 0,25 N em béquer. O NaOH remanescente foi quantificado a cada dois dias, por oito dias, pela titulação com HCl na presença do indicador fenoftaleína, após adição de cloreto de bário.

Os carboidratos solúveis foram extraídos de acordo com Ball et al. (1996). Amostras de solo foram agitadas com água quente (80°C) na proporção de 1:10 por 16 h, o extrato centrifugado e o sobrenadante filtrado em membrana de nitrocelulose (0,45 µm). Os carboidratos solúveis no filtrado foram hidrolisados em H₂SO₄ 12 M a 100°C por 35 min na presença de timol 1% (3-hidroxi-4-isopropil tolueno). Após resfriamento, a absorbância foi lida a 490 nm.

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

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey a $P<0,05$, considerando um delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. Empregou-se também a Análise das Correspondências Canônicas (ACC) utilizando os dados das análises físico-químicas significativas como variáveis explicativas (C total, N total, N mineral, P disponível, umidade de campo e pH). A significância das variáveis explicativas foi verificada a $P<0,05$ pelo teste de permutações de Monte Carlo. Realizou-se também uma Análise de Componentes Principais (ACP) a fim de se observar as relações entre as variáveis explicativas significativas, as variáveis respostas (análises microbianas) e as áreas de amostragem. Para essas análises multivariadas utilizou-se o programa Canoco for Windows 4.5 (BRAAK e SMILAUER, 1998).

4.3. RESULTADOS

Os microrganismos celulolíticos, proteolíticos e bactérias esporulantes tiveram menor ocorrência no solo sob fragmento de floresta secundária, em comparação com algumas áreas agrícolas, independente do manejo e da cultura (Tabela 4.2). Já os microrganismos amilolíticos (6,29±0,10), bactérias heterotróficas (7,93±0,13), solubilizadores de fosfato (5,34±0,25), actinomicetos (6,29±0,16), fungos totais (5,02±0,16) e protozoários (5,73±0,32) não apresentaram diferenças significativas pela análise univariada e por isso os

resultados não foram apresentados. A densidade de esporos de fungos micorrízicos foi maior na área de floresta e menor na área de tabaco convencional. Nesse caso, não diferiu das duas áreas cultivadas com milho, independente do sistema de manejo, e da área cultivada com feijão agroecológico no primeiro ano. Para as demais áreas, a densidade de esporos apresentou valores intermediários. O comprimento de hifas de fungos filamentosos foi maior nas áreas sob manejo agroecológico de milho e feijão com 2 anos de adoção, enquanto que as menores médias foram encontradas no solo sob cultivo de tabaco convencional.

Tabela 4.2. Grupos funcionais de microrganismos, número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e comprimento de hifas de fungos filamentosos em solos sob conversão de sistema de cultivo convencional para agroecológico.

Área	Celulolíticos (log UFC g ⁻¹)	Proteolíticos (log UFC g ⁻¹)	Bactérias esporulantes (log UFC g ⁻¹)	Esporos FMA (n g ⁻¹)	Hifa (m g ⁻¹)
Feijão 1 agr	6,13 ab	6,84 a	6,19 abc	35,31 bcd	9,16 ab
Feijão 2 agr	6,18 a	6,69 ab	6,27 ab	37,41 bc	14,80 a
Feijão 3 agr	6,16 a	6,64 ab	6,21 abc	40,47 bc	10,38 ab
Feijão 5 agr	6,24 a	6,74 ab	6,38 a	49,73 b	8,69 ab
Milho 3 agr	6,18 a	6,48 ab	5,91 bc	24,06 cd	13,49 a
Milho con	5,93 b	6,94 a	6,05 abc	26,54 cd	7,88 ab
Soja con	6,07 ab	6,73 ab	5,88 bc	45,63 b	7,35 ab
Tabaco con	6,10 ab	6,58 ab	6,10 abc	16,87 d	2,74 b
Flor.Sec.	5,58 c	6,23 b	5,77 c	73,60 a	10,68 ab
Erro padrão	±0,04	±0,11	±0,09	±3,98	±2,09
CV (%)	1,54	3,34	3,11	20,53	44,27

Letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. UFC = Unidade formadora de colônia.

O teste de Monte Carlo realizado durante a ACC indicou que as variáveis explicativas (C total, N total, N mineral, P disponível, umidade de campo e pH) não foram significativas para explicar a variação entre as variáveis microbiológicas dependentes de cultivo em meio de cultura. Quando se observa a ACP (Figura 4.1), a variabilidade explicada no eixo 1 foi de 53,7%, enquanto que no eixo 2 foi de 15,7% no plano fatorial. É possível observar a separação entre as áreas avaliadas no plano fatorial, com a formação de grupos compreendendo as áreas sob feijão agroecológico. As áreas sob milho agroecológico e tabaco convencional apresentaram maiores similaridades entre si, enquanto que a área sob floresta secundária foi a mais dissimilar. As áreas agroecológicas de feijão foram agrupadas de modo oposto ao fragmento sob floresta secundária ao longo do eixo 1 da componente principal. Por sua vez, essas áreas foram correlacionadas com os microrganismos celulolíticos, proteolíticos, amilolíticos, actinomicetos, bactérias esporulantes, fungos totais e nitritadores. O milho sob

sistema convencional foi a área que mais se correlacionou com os microrganismos amonificadores, apresentando maior proximidade com a área de floresta que as demais áreas. O grupo formado pelas áreas de milho agroecológico e tabaco convencional foi correlacionado com o segundo eixo da ACP e com os microrganismos solubilizadores de fosfato, as bactérias heterotróficas e os protozoários. Ainda no eixo 2, a área de soja convencional foi correlacionada com microrganismos nitratores (oxidantes de amônio).

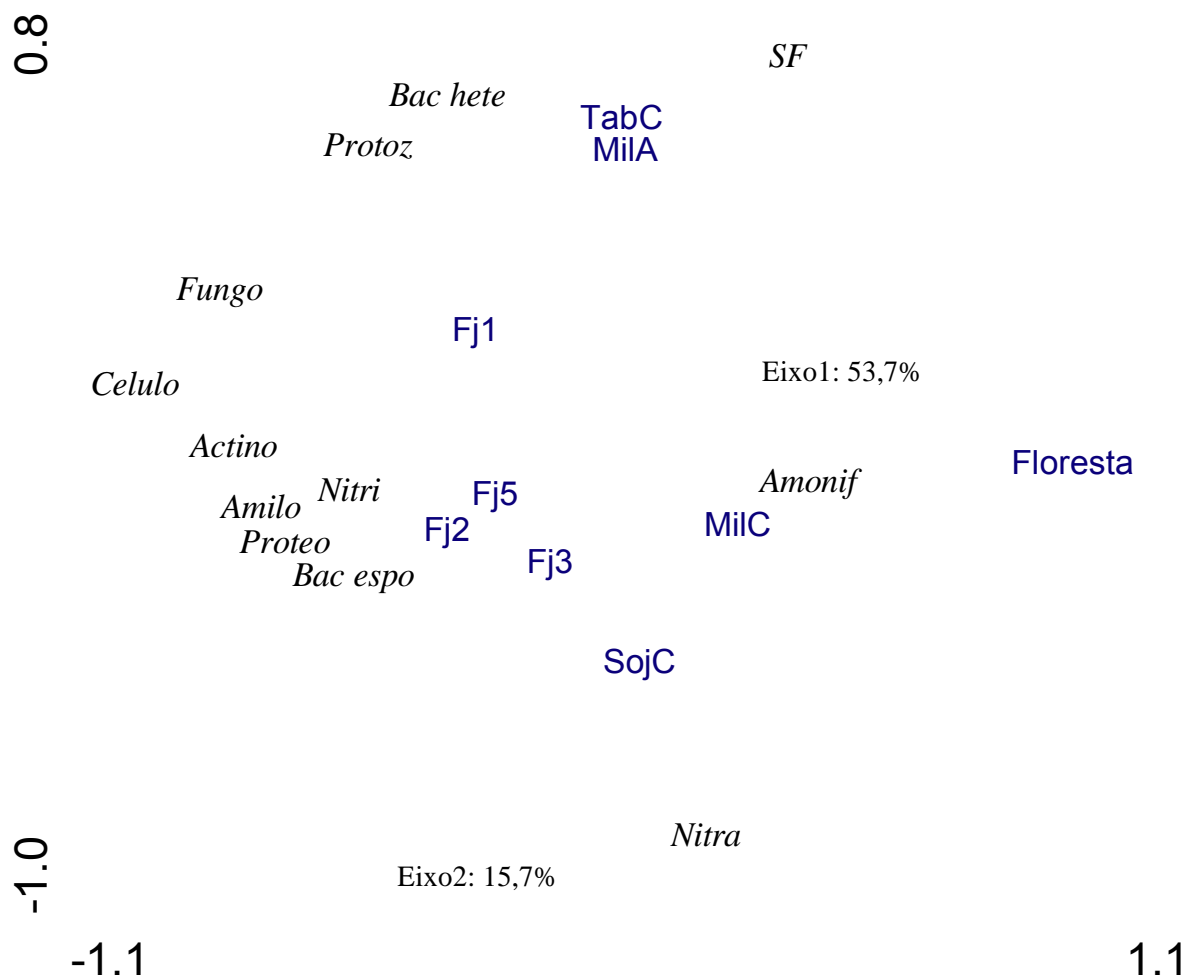


Figura 4.1. Plano fatorial da Análise dos Componentes Principais (ACP) baseada em grupos funcionais de microrganismos do solo (*Celulo*- celulolíticos, *Amilo*- amilolíticos, *Proteo*- proteolíticos, *Bac esp*- bactérias esporulantes, *Bac hete*- heterotróficas, *SF*- solubilizadores de fosfato, *Actino*- actinomicetos, *Fungo*- fungos totais, *Protoz*- protozoários, *Amonif*- amonificadores, *Nitri*- nitritadores e *Nitra*- nitratores e as áreas amostradas (Fj1- feijão agroecológico 1° ano; Fj2- feijão agroecológico 2° ano; Fj3- feijão agroecológico 3° ano; Fj4- feijão agroecológico 5° ano; MilA- milho agroecológico 3° ano; MilC- milho convencional; SojC- soja convencional; TabC- tabaco convencional; Floresta- fragmento de floresta secundária).

Dos microrganismos envolvidos no ciclo do nitrogênio, apenas os nitrificadores (oxidantes de amônio) foram afetados pelo manejo das áreas (Tabela 4.3). Não houve efeitos significativos para os amonificadores ($7,87 \pm 0,28$) e nitrificadores ($5,95 \pm 0,26$). No caso dos nitrificadores, as áreas sob feijão agroecológico com 2, 3 e 5 anos, bem como a área sob soja convencional apresentaram as maiores médias em comparação à área sob floresta secundária, com as maiores e menores ocorrências, respectivamente, sem que diferissem do tabaco convencional. A taxa de nitrificação apresentou maiores diferenças entre as áreas, sendo menor na floresta, seguida da área de tabaco convencional. Os maiores valores foram encontrados nas áreas sob cultivo de feijão em sistema agroecológico com 2 e 3 anos, não diferindo significativamente do feijão no primeiro ano e também da soja convencional. Já a amonificação apresentou a maior taxa na floresta secundária, seguida das áreas de feijão agroecológico há 1 e 5 anos, e tabaco convencional, seguidas das demais áreas com as menores taxas. A biomassa microbiana de nitrogênio (BMN) foi maior na floresta, seguida do milho convencional que não diferiu das áreas de feijão agroecológico no primeiro e quinto ano, enquanto a menor média foi encontrada no cultivo de tabaco convencional e não diferiu estatisticamente das áreas agroecológicas de milho e feijão há 2 e 3 anos e da soja convencional.

Tabela 4.3. Aspectos microbiológicos relacionados ao nitrogênio em solos sob conversão de sistema de cultivo convencional para agroecológico.

Área	Nitritadores (log NMP g ⁻¹)	Taxa de nitrificação (%)	Taxa de amonificação (μg N g ⁻¹ dia ⁻¹)	Biomassa de N (μg g ⁻¹)
Feijão 1 agr	4,73 bcd	19,91 abc	1,52 ab	48,81 bc
Feijão 2 agr	6,27 a	21,94 a	1,10 b	44,03 bcd
Feijão 3 agr	6,05 ab	21,25 ab	0,92 b	37,05 bcd
Feijão 5 agr	5,69 abc	16,89 bcd	1,38 ab	50,52 bc
Milho 3 agr	4,51 cd	12,21 de	1,14 b	30,36 cd
Milho con	4,8 bcd	15,36 cde	0,92 b	60,60 b
Soja con	6,32 a	18,48 abc	0,90 b	44,65 bcd
Tabaco con	5,24 abcd	11,51 e	1,51 ab	22,87 d
Flor.Sec.	4,12 d	5,46 f	2,00 a	102,94 a
Erro padrão	±0,30	±1,01	±1,27	±5,05
CV (%)	11,51	12,79	22,52	20,59

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

A respirometria do solo apresentou poucas diferenças entre as áreas sendo a maior média encontrada no feijão agroecológico há 3 anos, enquanto as menores foram encontradas nas áreas de milho agroecológico, milho e soja convencionais e floresta

secundária. As demais áreas sob sistema agroecológico e tabaco convencional apresentaram valores intermediários e não diferiram entre as áreas (Tabela 4.4). A maior biomassa microbiana de carbono (BMC) ocorreu na área de floresta secundária, seguida pelo milho convencional e, por fim, menor na área com tabaco convencional, que não diferiu das áreas agroecológicas e de soja convencional. Quando os valores de respirometria e biomassa foram convertidos em coeficiente metabólico ($q\text{CO}_2$), os efeitos dos tratamentos tornaram-se mais evidentes. Nesse caso, o menor valor foi encontrado na área de floresta, e os maiores nas áreas de feijão agroecológico há 3 anos e sob tabaco convencional, sendo que as outras áreas não diferiram estatisticamente da maior e menor média.

O maior teor de carboidratos solúveis em água quente foi encontrado no solo sob floresta secundária, seguida pelas áreas sob feijão agroecológico há 5 anos e milho convencional, sendo o menor teor encontrado na área sob tabaco convencional que não diferiu das áreas de soja convencional e feijão agroecológico há 2 e 3 anos (Tabela 4.4). Com relação aos teores de argila dispersa em água, os maiores valores foram encontrados nos solos sob cultivo de agroecológico (feijão e milho) e tabaco convencional, com diminuição nas áreas de milho e soja convencionais e os menores teores na área sob floresta secundária.

Tabela 4.4. Aspectos microbiológicos relacionados ao carbono e argila dispersa em água (ADA) em solos sob conversão de sistema de cultivo convencional para agroecológico.

Área	Respirometria ($\mu\text{g CO}_2 \text{g}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Biomassa de C ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$q\text{CO}_2$ ($\eta\text{g CO}_2 \mu\text{g}^{-1}$ BMC h^{-1})	Carboidratos ($\mu\text{g A.R.}^{(a)} \text{g}^{-1}$)	ADA (g kg^{-1})
Feijão 1 agr	43,82 ab	303,15 bc	6,27 abc	149,59 bc	65,93 abc
Feijão 2 agr	42,27 ab	305,04 bc	6,32 abc	66,27 cd	69,02 ab
Feijão 3 agr	58,07 a	269,26 bc	9,27 a	124,15 bcd	78,75 a
Feijão 5 agr	46,62 ab	314,45 bc	6,18 abc	187,48 b	71,5 ab
Milho 3 agr	33,7 b	263,61 bc	5,52 abc	142,65 bc	56,93 bc
Milho con	37,61 b	436,84 ab	3,76 bc	158,27 b	47,86 c
Soja con	28,64 b	312,57 bc	4,07 abc	114,46 bcd	47,64 c
Tabaco con	41,42 ab	214,65 c	9,00 ab	45,31 d	60,98 abc
Flor. Sec.	38,16 b	621,37 a	2,57 c	434,93 a	15,51 d
Erro padrão	$\pm 3,90$	$\pm 39,31$	$\pm 1,13$	$\pm 17,89$	$\pm 4,11$
CV: (%)	19,00	23,27	38,55	22,63	14,40

^(a) A.R. = açúcar redutor. Letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Para as variáveis microbianas não dependentes de cultivo, o teste de Monte Carlo realizado durante a ACC indicou que apenas as variáveis explicativas nitrogênio total, umidade de campo e pH foram significativas para explicar as variáveis de resposta. Dessa forma, essas três variáveis explicam 57,3% da inércia total dos dados, dos quais 94,8 % foram

explicados no eixo canônico 1 e 4,3 % foram explicados no eixo canônico 2 (Figura 4.2). Nota-se que as variáveis explicativas N total (Ntot) e umidade (Umi) apresentaram proximidade entre si e se posicionaram de maneira oposta ao pH. Por sua vez, considerando o primeiro eixo canônico, a biomassa microbiana de nitrogênio e os carboidratos solúveis apresentaram maior proximidade com as variáveis explicativas N total e umidade. Já a taxa de nitrificação, argila dispersa, qCO_2 , respirometria e hifas de fungos filamentosos foram mais relacionadas com o pH. A taxa de amonificação, biomassa microbiana de carbono e esporos de fungos micorrízico assumiram posição intermediária no plano fatorial.

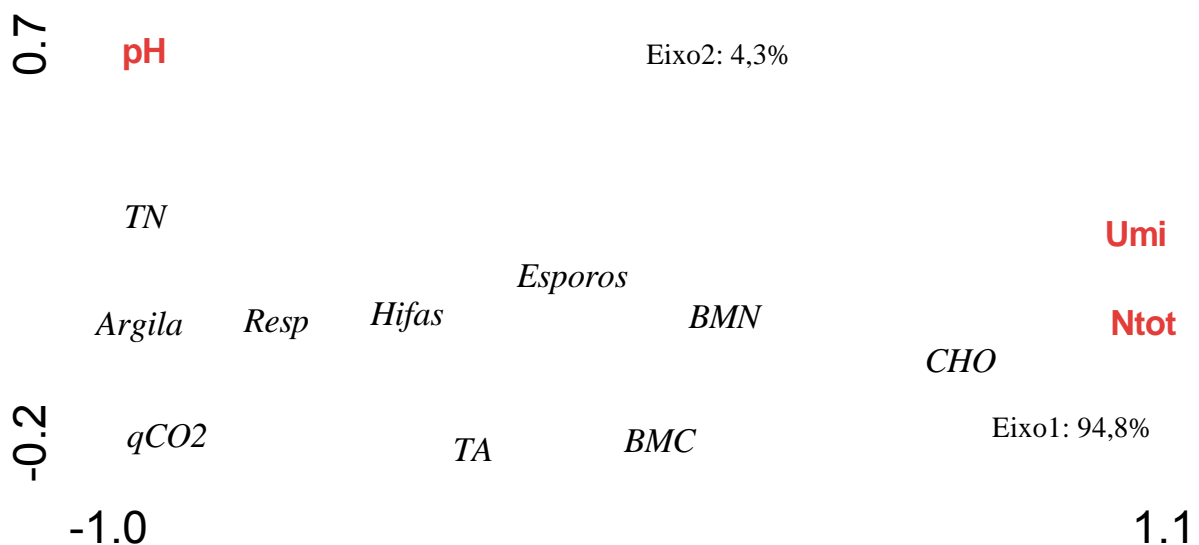


Figura 4.2. Análise Canônica Correspondente (ACC) baseada nas variáveis microbiológicas não dependentes de cultivo e argila dispersa em água (*BMC*- biomassa microbiana de carbono, *BMN*- biomassa microbiana de nitrogênio, *CHO*- carboidratos solúveis em água quente, *Esporos*- esporos de fungos micorrízicos, *Hifas*- hifas de fungos filamentosos, *Resp*- respirometria, *TA*- taxa de amonificação, *TN*- taxa de nitrificação, qCO_2 - coeficiente metabólico, *Argila*- argila dispersa em água) e nas variáveis explicativas (Ntot- nitrogênio total, Umi- umidade de campo e pH).

Na segunda ACP (Figura 4.3), considerando as variáveis microbianas não dependentes de cultivo, o eixo 1 explicou 62,8%, enquanto o eixo 2 explicou 13,2% da variabilidade no plano fatorial. Novamente a área sob floresta secundária se destacou das demais, as quais apresentaram formação de um grupo englobando as áreas sob feijão agroecológico e outro com as áreas sob soja e milho convencionais mais milho agroecológico. A área sob tabaco convencional apresentou posição intermediária entre esses dois grupos. As variáveis que mais se correlacionaram com a área sob fragmento de floresta nativa foram BMC, BMN, carboidratos solúveis em água quente, taxa de amonificação, esporos de fungos

micorrízicos e hifas de fungos filamentosos, juntamente com as variáveis explicativas N total e umidade de campo (eixo 1). Por outro lado, a argila dispersa em água, taxa de nitrificação e coeficiente metabólico (qCO_2) se correlacionaram negativamente com a área de floresta secundária, mas apresentaram correlações positivas com as áreas de feijões agroecológicos. Nota-se que a variável explicativa pH apresentou correlação positiva com essas variáveis e as áreas agrícolas. A respirometria apresentou correlação positiva com a área sob feijão agroecológico há 3 anos, mas se correlacionou inversamente com as áreas convencionais de milho e soja e milho agroecológico.

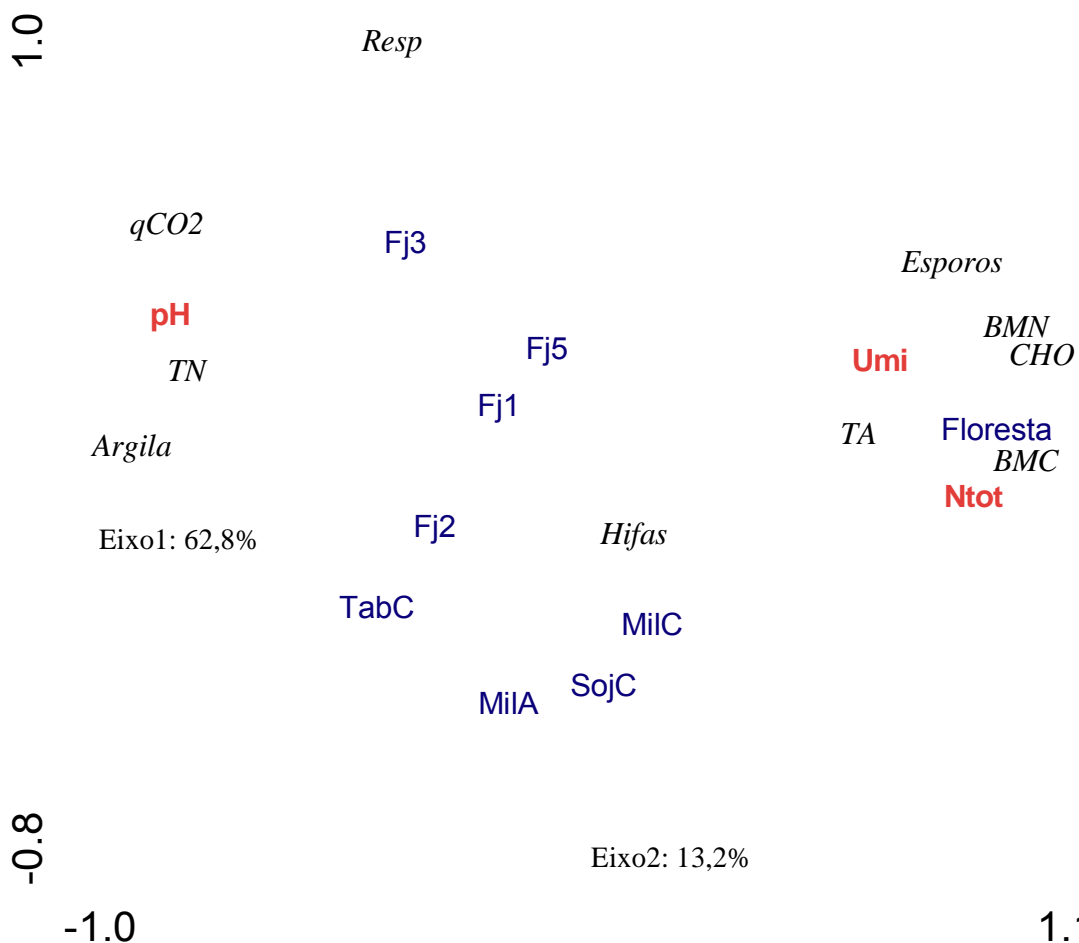


Figura 4.3. Plano fatorial da Análise dos Componentes Principais (ACP) baseado em aspectos microbiológicos não dependentes de cultivo e argila dispersa em água, variáveis explicativas e as áreas amostradas (Fj1- feijão agroecológico 1° ano; Fj2- feijão agroecológico 2° ano; Fj3- feijão agroecológico 3° ano; Fj4- feijão agroecológico 5° ano; MilA- milho agroecológico 3° ano; MilC- milho convencional; SojC- soja convencional; TabC- tabaco convencional; Floresta- fragmento de floresta secundária).

4.4. DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas baseadas em cultivo (celulolíticos, proteolíticos e bactérias esporulantes) apresentaram menores valores no solo sob fragmento de floresta secundária, mesmo esta tendo apresentado maiores BMC e BMN. Entretanto, mesmo considerando a limitação dos métodos baseados em cultivo (ROSSELÓ-MORA e AMMAN, 2001), pode-se considerar que os microrganismos aptos a crescerem em meio de cultivo artificial sejam representativos da biomassa microbiana total. Sob esse aspecto, houve predomínio desses grupos microbianos nas áreas agrícolas em comparação com o solo sob floresta nativa. Embora não seja possível quantificar quanto cada grupo funcional represente da biomassa microbiana total, pode-se inferir que a sua menor ocorrência no solo florestal se deva ao equilíbrio de sua população em relação às demais espécies microbianas, no qual se espera encontrar maior diversidade, conforme observado anteriormente (LI et al., 2004; NOGUEIRA et al., 2006). Após incorporação do solo ao processo produtivo, um novo equilíbrio entre as espécies é estabelecido, e nesse caso, microrganismos mais adaptados às novas condições passam a predominar (PERRY et al., 1989), geralmente numa situação em que a quantidade e a diversidade de carbono orgânico que retornam ao solo são menores (GRAYSTON et al., 2001).

Os fungos micorrízicos constituem um importante grupo funcional microbiano dos ecossistemas terrestres que não podem ser cultivados artificialmente. Sua avaliação no solo em termos quantitativos e qualitativos é baseada no isolamento e identificação de seus esporos (BETHLENFALVAY e LINDERMAN, 1992). Nesse trabalho, observou-se que a densidade de esporos de fungos micorrízicos foi severamente influenciada pelas diferentes formas de uso e manejo do solo. A menor densidade encontrada na área sob tabaco convencional pode ser o reflexo da baixa diversidade de plantas hospedeiras, bem como da grande quantidade de fertilizantes solúveis contendo fósforo, o que é limitante à comunidade de fungos micorrízicos. O intensivo revolvimento do solo, aplicação de herbicidas para o controle de invasoras, bem como o uso de fungicidas, pode ter contribuído para diminuir a densidade de esporos de fungos micorrízicos. Por outro lado, há uma tendência no aumento do número de esporos de fungos micorrízicos com o aumento do tempo de adoção do sistema agroecológico de cultivo de feijão. Esse sistema de cultivo, além de utilizar formas de P de baixa solubilidade, não usa produtos químicos industrializados para o controle de pragas e doenças, diminuindo a probabilidade que estes venham a prejudicar a comunidade de fungos micorrízicos. Além disso, o cultivo de plantas usadas como adubos

verdes também auxilia no aumento dos propágulos de fungos micorrízicos. Os cultivos de milho agroecológico e milho em sistema convencional também apresentaram baixa densidade de esporos de fungos micorrízicos. Acredita-se que essa baixa contagem não se deva à cultura em si, mas ao sistema em que estas são cultivadas. No sistema convencional a aplicação de fontes solúveis de P e produtos fitossanitários contribuem para limitar os fungos micorrízicos, enquanto que no sistema agroecológico, o solo das entrelinhas é constantemente revolvido para o controle mecânico de plantas invasoras, o que leva ao rompimento da rede de hifas fúngicas, prejudicando seu desenvolvimento no solo. Finalmente, a área sob floresta nativa apresentou a maior densidade de esporos, fato atribuível à maior diversidade de plantas hospedeiras, não revolvimento do solo e o não uso de produtos fitossanitários, em um solo com baixa disponibilidade de P ($1,63 \text{ mg kg}^{-1}$), o que estimula a esporulação micorrízica. Assim como a densidade de esporos, a quantidade de hifas de fungos filamentosos também foi menor no solo sob cultivo convencional de tabaco. Considerando que de 35 a 70% das hifas de fungos filamentosos no solo pode ser proveniente de fungos micorrízicos (CARDOSO-FILHO et al., 1999), essa baixa contagem de hifas no solo sob tabaco pode ser decorrente das condições adversas à comunidade de fungos micorrízicos na área. Embora não haja uma relação direta entre quantidade de hifas e densidade de esporos de fungos micorrízicos, nota-se que nas áreas com maior aporte de resíduos orgânicos há maior quantidade de hifas de fungos filamentosos, também provenientes de fungos saprofíticos que atuam sobre a matéria orgânica em decomposição. Entretanto, essa observação não foi corroborada pela quantificação de fungos em meio de cultivo, não havendo, nesse caso, diferença significativa entre as áreas avaliadas.

Com relação aos indicadores relacionados ao ciclo do N, os valores mais favoráveis foram registrados no solo da área sob fragmento florestal, com menor taxa de nitrificação, maior amonificação e biomassa microbiana de N. Menores taxas de nitrificação representam menor potencial de perdas de N do sistema por lixiviação e desnitrificação, uma vez que a velocidade de conversão do amônio para nitrato é menor (SCHUSTER e SCHRODER, 1990). Os menores valores para essa variável foram encontrados nas áreas sob cobertura florestal, milho agroecológico e convencional, e tabaco convencional. Entretanto, a nitrificação é um processo mais complexo do que o simples envolvimento de microrganismos nitrificadores autolitotróficos, sendo que a nitrificação heterotrófica também pode ocorrer (DUGGIN et al., 1991).

A mineralização do nitrogênio (amonificação) no solo é um processo predominantemente microbiológico, que além de depender da ação microbiana, depende

também dos estoques de N orgânico do solo (INSAN et al., 1996). Assim, a maior taxa de amonificação observada no solo sob fragmento florestal denota sua maior capacidade em fornecer N à vegetação presente. A biomassa microbiana é um importante reservatório de C e nutrientes no solo, principalmente N e P, os quais podem ser facilmente disponibilizados após a morte da célula microbiana. Nesse caso, a biomassa microbiana de N apresentou os maiores teores na área sob fragmento florestal, enquanto os menores ocorreram na área sob cultivo de tabaco convencional. Esse resultado indica que o sistema mais impactante de uso do solo resulta em menor estoque de N na forma de células microbianas, indicando baixa reserva de N orgânico que poderia ser mineralizado e disponibilizado às plantas. Melero et al. (2006) encontraram teores de BMN variando de 70 a 160 $\mu\text{g g}^{-1}$ em cultivos orgânicos e de 40 a 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ em convencionais, valores também semelhantes aos aqui apresentados. Entretanto, em contraste à menor BMN, o solo sob tabaco convencional apresentou os maiores teores de N-mineral na forma de nitrato (50,6 mg kg^{-1} , dados não apresentados) devido à alta quantidade de fertilizante mineral fornecida à cultura. As formas de N mineral nos solos geralmente se apresentam em baixos teores devido à facilidade com que são transformadas por microrganismos, imobilizadas, lixiviadas na forma de nitrato ou por desnitrificação. Nogueira et al. (2006) encontraram maior disponibilidade de N mineral, em contraste com menor BMC, BMN e respiração basal em ambientes agrícolas, comparados aos de reflorestamento e com vegetação nativa. Segundo Mummey et al. (2002), esse comportamento denota uma ciclagem ineficiente do N no solo do ambiente agrícola, expondo-o a perdas.

A BMC seguiu a mesma tendência da BMN, possivelmente por aparentemente serem igualmente afetadas pelas práticas de manejo do solo e conteúdo de matéria orgânica (De NOBILI et al., 2006), de forma que não houve efeito das diferentes formas de manejo das áreas sobre a relação C/N da biomassa microbiana, cujo valor médio foi de 7,8 (dados não apresentados). A adição de adubos orgânicos aumentou a BMC e BMN em solos sob plantio de feijão e melão em sistemas orgânicos (MELERO et al., 2006). Os valores de BMC encontrados variaram de 400 a 600 $\mu\text{g g}^{-1}$ em cultivos orgânicos e de 150 a 300 $\mu\text{g g}^{-1}$ em cultivos convencionais, valores próximos aos encontrados neste trabalho. Embora houvesse tendência de os cultivos sob manejo agroecológico apresentarem maior BMC, essas diferenças não foram estatisticamente significativas, tendo havido destaque apenas para a área sob cobertura florestal, com a maior média.

O $q\text{CO}_2$ apresentou valores que refletiram o uso do solo e a cobertura vegetal. O menor valor encontrado no solo sob cobertura florestal indica que nesta área, livre

da intensa ação antrópica, os microrganismos são mais eficientes metabolicamente, ou seja, necessitam respirar menos por unidade de biomassa microbiana (ANDERSON e DOMSCH, 1993). Valores mais elevados, como os encontrados nas áreas sob feijão agroecológico há 3 anos e também na área sob cultivo de tabaco convencional, indicam menor eficiência metabólica dos microrganismos. No primeiro caso, pelo histórico da área é possível verificar que o aporte de resíduos orgânicos é maior, o que possibilita uma maior colonização pela comunidade de microrganismos envolvida na degradação de formas de carbono de fácil utilização, acelerando a respiração microbiana (JOERGENSEN e CASTILLO, 2001). Dinesh et al. (2003) observaram maiores valores de qCO_2 em solos que recebiam maiores entradas de C orgânico, como é o caso das áreas sob manejo agroecológico. Por outro lado, embora a área sob cultivo de tabaco convencional tenha baixa entrada de resíduos orgânicos, o valor de qCO_2 também foi alto, o que, nesse caso, é atribuível a uma condição mais estressante em que está submetida a comunidade microbiana daquele solo. Além disso, a área de feijão agroecológico há 3 anos sofreu capina mecânica para controle de plantas daninhas, o que pode ter estimulado a atividade microbiana pela oxigenação do solo causada pelo seu revolvimento.

Um solo com teor elevado de matéria orgânica tende a manter a comunidade microbiana mais estável ao longo do ano, provavelmente, em decorrência da riqueza de nichos ecológicos e pela heterogeneidade das fontes de carbono que podem ser por ela utilizadas (De FEDE et al., 2001; GRAYSTON et al., 2001). O teor de carboidratos solúveis representa uma fonte de carbono orgânico no solo que pode ser rapidamente utilizada pelos microrganismos. Neste trabalho, maiores teores de carboidratos solúveis no solo foram observados sob fragmento de floresta secundária, seguidos pela área sob feijão agroecológico mais antigo. Esses resultados podem ser decorrentes da maior incorporação de carbono orgânico ao solo florestal e ao dos sistemas agroecológicos adotados há mais tempo. No caso desse trabalho, o efeito do manejo das áreas foi mais pronunciado sobre o teor de C orgânico total do que o teor de carboidratos solúveis.

Os sistemas de cultivos que revolvem o solo diminuem seu teor de matéria orgânica, o que contribui para diminuir a estabilidade de agregados e aumentar o teor de argila dispersa em água. A matéria orgânica tem ação cimentante, formando agregados mais resistentes à ação das gotas de chuva, com menores riscos de erosão (GRANDY et al., 2002). O solo sob floresta possui uma maior agregação, visto que nessa condição há maiores entradas de matéria orgânica. Em contrapartida, os sistemas agrícolas apresentaram maiores teores de argila dispersa, fato atribuível ao revolvimento do solo e, em alguns casos, a exposição desse à ação das gotas de chuva pela falta de cobertura morta, mesmo em áreas sob manejo

agroecológico. A comunidade bacteriana é o principal agente microbiano que atua na estabilização de agregados (DUFRANC et al., 2004) que por sua vez está diretamente relacionada ao manejo e ao teor de matéria orgânica do solo (De NOBILI et al., 2006).

Conclui-se que as diferentes coberturas vegetais e usos do solo alteram a sua comunidade microbiana. Essa alteração não necessariamente resulta em diminuição da comunidade microbiana, mas às vezes, como no caso das áreas agrícolas, ocorre a seleção de determinados grupos microbianos mais adaptados àquela situação. O sistema agroecológico mais antigo tende a restabelecer algumas propriedades microbianas do solo a níveis mais próximos aos encontrados na área sob fragmento florestal. Por outro lado, o cultivo de tabaco em sistema convencional foi considerado o mais impactante devido às formas de manejo que envolve o revolvimento constante do solo, ausência de cobertura vegetal e freqüente aplicação de fertilizantes químicos e produtos fitossanitários.

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, J.M.; INGRAM, J.S.I. Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods. **CAB international**, Wallingford, 1993, 171p.

ANDRADE, G.; MIHARA, K.L.; LINDERMAN, R.G.; BETHLENFALVAY, G.J. Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v.192, p.71-79, 1997.

ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M.A. Bioindicadores para uma análise de risco ambiental: Organismos geneticamente modificados e grupos funcionais de microrganismos do solo. **Biociência**, v.34, p.11-19, 2005.

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

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

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

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 de Solo**, v. 22, p. 641-649, 1998.

BETHLENFALVAY, G. J.; LINDERMANN, R.G. 1992. **Mycorrhizae in sustainable agriculture**. ASA/CSSA/SSSA, Madison. 1992, 124 p.

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

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

BRUSSAARD, L.; KUYPER, T.W.; DIDDEN, W.A.M.; de GOEDE, R.G.M.; BLOEM, J. **Biological soil quality: from biomass to biodiversity – importance and resilience to management stress and disturbance**. In: SCHJONNING, P., ELMHOLT, S., CHRISTENSEN, B.T. (Eds.), *Managing Soil Quality: Challenges in Modern Agriculture*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 139-161. 2004.

CAMBARDELLA, C.A.; ELLIOT, E.T. Particulate soil organic matter changes across a grassland cultivation sequence. **Soil Science Society of America Journal**, v.56, p.777-783, 1992.

CARDOSO-FILHO J.; PACOVSKY, R.S.; CARDOSO, E.J.B.N. Growth and metabolic activity of the extramatricial mycelium of endomycorrhizal maize plants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p.807-815, 1999.

DE FEDE, K. L.; PANACCIONE, D. G.; SEXTONE, A. J. Characterization of dilutionenrichment cultures obtained from size-fractionated soil bacteria by BIOLOG R community-level physiological profiles and restriction analysis of 16S rDNA genes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 11, p. 1555-1562, 2001.

DE NOBILI, M.; CONTIN, M.; BROOKES, P.C. Microbial biomass dynamics in recently air-dried and rewetted soils compared to others stored air-dry for up to 103 years. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 2871–2881, 2006.

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

DORAN, J.W.; ZEISS, M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology**, v.15, n.1, p3-11. 2000.

DROZD, J.; GONET, S.S.; SENESI, N.; WEBER, K. The role of humic substances in the ecosystem and in environmental protection. **IHSS-Polish Society of Humic Substances**, Wroclaw, Poland, p.257-261, 1997.

DUFRANC, G.; DECHEN, S. C. F.; FREITAS, S. S.; CAMARGO, O. A. Atributos físicos, químicos e biológicos relacionados com a estabilidade de agregados de dois latossolos em plantio direto no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, v.28, p.505-517, 2004.

DUGGIN, J.A.; VOIGT, G.K.; BORMANN, F.H. Autotrophic and heterotrophic nitrification in response to clear-cutting northern hardwood forest. **Soil Biology and Biochemistry**, v.23, p. 779-787, 1991.

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

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

FREY, S.D.; ELLIOTT, E.T.; PAUSTIAN, K. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. **Soil Biology and Biochemistry**, v.31, p.573-585, 1999.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v.6, p.235-246, 1963.

GRANDY, A.S.; PORTER, G.A.; ERICH, M.S. Organic amendment and rotation crop effects on the recovery of soil organic matter and aggregation in potato cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**, v.66, p.1311-1319, 2002.

GRAYSTON, S. J.; GRIFFITH, G. S.; MAWDESLEY, J. L.; CAMPEBELL, C. D.; BARDGETT, R. D. Accounting of variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 4-5, p. 533-551, 2001.

INGHAM, E.R. Protozoa. In: R.W. Weaver, Angle, S., Bottomley, P., Bezdicek, D., Smith, S., Tabatabai, A., Wollum, A. (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Part 2: Microbiological and biochemical properties*. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, p. 491-515, 1994.

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

JOERGENSEN, R.G.; CASTILLO, X. Interrelationships between microbial and soil properties in young volcanic ash soil of Nicaragua. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 1581-1589, 2001.

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

MELERO, S.; PORRAS, J. C. R.; HERENCIA, J. F.; MADEJON, E. Chemical and biochemical properties in a silty loam soil under conventional and organic management. **Soil and Tillage Research**, v. 90, p. 162-170, 2006.

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

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

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

ROSSELÓ-MORA, R.; AMANN, R. The species concept for prokaryotes. **FEMS Microbiology Review**, v. 25, p. 39-67, 2001.

SARATHCHANDRA, S.V. Nitrification activities and the changes in the population of nitrifying bacteria in soil perfused with two different H-ion concentrations. **Plant and Soil**, v.50, p.99-111, 1978.

SCHUSTER, E.; SCHRODER, D. Side effects of sequentially-applied pesticides on target soil microorganisms: field experiments. **Soil Biology and Biochemistry**, v.22, p.67-373, 1990.

SCHMIDT, E.L.; BELSER, L.W. Autotrophic nitrifying bacteria. In: R.W. Weaver et al. (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Part 2: Microbiological and Biochemical Properties*. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, p.159-177. 1994.

SINGH, J.S.; RAGHUBANSHI, A.S.; SINGH, R.S.; SRIVASTAVA, S.C. Microbial biomass acts as a source of plant nutrients in dry tropical forest and savanna. **Nature**, v.338, p.499-500, 1989.

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

WOOMER, P.L. Most Probable Number Counts. In: R.W. Weaver, Angle, S., Bottomley, P., Bezdicek, D., Smith, S., Tabatabai, A., Wollum, A. (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Part 2: Microbiological and Biochemical Properties*. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, p.59-79, 1994.

5. CONCLUSÕES GERAIS

- Os indicadores microbiológicos e bioquímicos de qualidade do solo apresentam variações que dependeram principalmente da forma de manejo do solo, mas também, em menor grau, da cobertura vegetal.
- Apesar de haver menor biomassa microbiana de C e N, alguns grupos funcionais são estimulados nas áreas cultivadas, o que permite sugerir uma dominância de espécies adaptadas àquelas condições.
- As enzimas relacionadas à ciclagem do C e do N, de modo geral, são mais ativas na área de vegetação nativa e sob sistema agroecológico há mais tempo.
- O cultivo de tabaco convencional pode ser considerado o sistema mais impactante, geralmente apresentando os piores resultados quanto aos bioindicadores avaliados.
- É possível que ao longo do tempo os sistemas agroecológicos passem a apresentar níveis de atividade microbiológica e bioquímica próximos aos da área referência.

REFERÊNCIAS

- AMADOR, J.A.; GLUCKSMAN, A.M.; LYONS, J.B.; GORRES, J.H. Spatial distribution of soil phosphatase activity within a riparian forest. **Soil Science**, v.162, p.808-825, 1997.
- ANDERSON, J.M.; INGRAM, J.S.I. Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods. **CAB international**, Wallingford, 1993, 171p.
- ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient form CO₂ ($q\text{CO}_2$) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.25, p.393-395, 1993.
- ANDRADE, D.S.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO; HUNGRIA, M. População microbiana em solos sob plantio direto ou convencional com soja, milho e trigo. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO SOBRE PLANTIO DIRETO NA PEQUENA PROPRIEDADE, 1, 1993, Ponta Grossa. **Resumos**. Ponta Grossa: IAPAR, 1993, p. 23.
- ANDRADE G. Role of functional groups of microorganisms on the rhizosphere microcosm dynamics. In: VARMA A., ABBOTT L., WERNER, D.; HAMPP, R. (Eds.), **Plant Surface Microbiology**. Springer-Verlag, Berlin, p. 51-69, 2004.
- ANDREWS, S. S.; KARLEN, D. L.; CAMBARDELLA, C. A. The Soil Management Assessment Framework: A Quantitative Soil Quality Evaluation Method. **Soil Science Society of America**, v.68, p.1945-1962, 2004.
- BADIANE, N.N.Y.; CHOTTE, J.L.; PATE, E.; MASSE, D.; ROULAND, C. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. **Applied Soil Ecology**, v.18, p.229-238, 2001.
- BALL, B.C.; CHESHIRE, M.V.; ROBERTSON, E.A.G.; HUNTER, E.A. Carbohydrate composition in relation to structural stability, compactibility and plasticity of two soils in a long-term experiment. **Soil and Tillage Research**, v.39, p.1647-1653, 1996.
- 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 de Solo**, v. 22, p. 641-649, 1998.
- BALOTA, E.L.; KANASHIRO M.; COLOZZI FILHO A.; ANDRADE D.S; DICK R.P. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 35, p. 300-306, 2004.

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

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

BRUSSAARD, L.; KUYPER, T.W.; DIDDEN, W.A.M.; De GOEDE, R.G.M.; BLOEM, J. **Biological soil quality: from biomass to biodiversity – importance and resilience to management stress and disturbance**. In: SCHJONNING, P., ELMHOLT, S., CHRISTENSEN, B.T. (Eds.), *Managing Soil Quality: Challenges in Modern Agriculture*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 139-161. 2004.

BRUSSAARD, L.; RUITER, P.C.; BROWN, G.G. Soil biodiversity for agricultural sustainability. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.121, p.233–244, 2007.

CAMBARDELLA, C.A.; ELLIOT, E.T. Particulate soil organic matter changes across a grassland cultivation sequence. **Soil Science Society of America Journal**, v.56, p.777-783, 1992.

CARAVACA, F.; BAREA, J.M.; FIGUEROA, D.; ROLDÁN, A. Assessing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and soil compost addition for enhancing reforestation with *Olea europaea* subsp. *sylvestris* through changes in soil biological and physical parameters. **Applied Soil Ecology**, v. 20, p. 107–118, 2002.

CARNEIRO R. G.; MENDES I. C.; LOVATO P.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**, v. 39, n. 7, p. 661-669, 2004.

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

CASTRO, O.M.; PRADO, H.; SEVERO, A.C.R.; CARDOSO, E.J.B.N. Avaliação da atividade de microrganismos do solo em diferentes sistemas de manejo de soja. **Scientia Agricola**, v. 50, p. 212-219, 1993.

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

COLOZZI-FILHO, A.; CARDOSO, E. J. B. N. Detecção de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de cafeeiro e de crotalária cultivada na entrelinha, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.10, p.2033-2042, 2000.

DE FEDE, K. L.; PANACCIONE, D. G.; SEXTONE, A. J. Characterization of dilution-enrichment cultures obtained from size-fractionated soil bacteria by BIOLOG R community-level physiological profiles and restriction analysis of 16S rDNA genes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 11, p. 1555-1562, 2001.

DE NOBILI, M.; CONTIN, M.; BROOKES, P.C. Microbial biomass dynamics in recently air-dried and rewetted soils compared to others stored air-dry for up to 103 years. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 2871–2881, 2006.

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

DENG, S.P.; TABATABAI, M.A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: I. Amidohydrolases. **Biology and Fertility of Soils**, v.22, p.202-207, 1996a.

DENG, S.P.; TABATABAI, M.A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: II. Glycosidases. **Biology and Fertility of Soils**, v.22, p.208-213, 1996b.

DICK, R.P. **Soil enzyme activities as indicators of soil quality**. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. Defining soil quality or a sustainable environment. Soil Science Society of America Journal, Madison, p.107-124, 1994.

DORAN, J.W. Soil quality and sustainability. in: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, XXVI. Rio de Janeiro, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 1997.

DORAN, J.W.; ZEISS, M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology**, v.15, n.1, p3-11. 2000.

DROZD, J.; GONET, S.S.; SENESI, N.; WEBER, K. The role of humic substances in the ecosystem and in environmental protection. **IHSS-Polish Society of Humic Substances**, Wroclaw, Poland, p.257-261, 1997.

DUFRANC, G.; DECHEN, S. C. F.; FREITAS, S. S.; CAMARGO, O. A. Atributos físicos, químicos e biológicos relacionados com a estabilidade de agregados de dois latossolos em plantio direto no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.505-517, 2004.

FERREIRA, M.C.; ANDRADE, D.S.; CHEIRA, L.M.O.; TAKEMURA, S.; HUNGRIA, M. Tillage method and crop rotation effects on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. **Soil Biology and Biochemistry**, 32, p. 627-637, 2000.

FREY, S.D.; ELLIOTT, E.T.; PAUSTIAN, K. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. **Soil Biology and Biochemistry**, v.31, p.573-585, 1999.

GHANI, A.; DEXTER, M.; PERROTT, K.W. Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.35, p.1231–1243, 2003.

GRANATSTEIN, D.; BEZDICEK, D.F. The need for a soil quality index: local and regional perspectives. **American Journal of Alternative Agriculture**, v.17, p.12-16, 1992.

GRAYSTON, S. J.; GRIFFITH, G. S.; MAWDESLEY, J. L.; CAMPEBELL, C. D.; BARDGETT, R. D. Accounting of variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 4-5, p. 533-551, 2001.

GYANESHWAR, P.; NARESH-KUMAR, G.; PAREKH, L.J.; POOLE, P.S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, v.245, p.83-93, 2002.

ISLAM, K.R.; WEIL, R.R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biology and Fertility of Soils**, v. 27, p. 408-416, 1998.

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

JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-I. Fumigation with chloroform. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 8, p. 167-177, 1976.

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

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

LIMA, D.; NOGUEIRA, M.; CURY, R.M.; MURATE, L.S.; SENO, F.Z.; BENEDICTO, K.C.; SANTOS, C. A.; CASTRO, C.G.; CRUZ, M.; ANDRADE, G. Indicadores de qualidade de solo na transição de sistema de produção agrícola convencional para agroecológico. In: **FERTBIO**, Bonito, 2006.

- MELERO, S.; PORRAS, J. C. R.; HERENCIA, J. F.; MADEJON, E. Chemical and biochemical properties in a silty loam soil under conventional and organic management. **Soil and Tillage Research**, v. 90, p. 162-170, 2006.
- MONOKROUSOS, N.; PAPTAEODOROU, E.M.; DIAMANTOPOULOS, J.D.; STAMOU, G.P. Soil quality variables in organically and conventionally cultivated field sites. **Soil Biology and Biochemistry**, v.38, p. 1282-1289, 2006.
- MOREIRA, J.M.S.; SIQUEIRA, J.Q. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2002, 625 p.
- MUMMEY, D.L.; STAHL, P.D.; BUYER, J.S. Microbial biomarkers as an indicator of ecosystem recovery following surface mine reclamation. **Applied Soil Ecology**, v.21, p.251-259, 2002.
- NOGUEIRA, M.A.; ALBINO, U.B.; BRANDÃO-JÚDIOR, O.; BRAUN, G.; CRUZ, M.F.; DIAS, B.A.; DUARTE, R.T.D.; GIOppo, N.M.R.; MENNA, P.; ORLANDI, J.M.; RAIMAN, M.; RAMPAZO, L.G.L.; SANTOS, M.A.; SILVA, M.E.Z.; VIEIRA, F.P.; TOREZAN, J.M.D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, G. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.115, p.237-247, 2006.
- OLIVEIRA-JUNIOR, A.G.; NOGUEIRA, M.; LIMA, D.; SANTINONI, I.; MIYAUCHI, M.; MARTINES, A.; BOTELHO, N.; NIMTZ, A.; ANDRADE, G. Atividades enzimáticas em solo sob fragmentos florestais nativos, reflorestados e agrícolas na região de Irati PR. in: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, XXXI. Gramado, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 2007.
- PANIKOV, N.S. Understanding and prediction of soil microbial community dynamics under global change, **Applied Soil Ecology**, v.11, p.161-176, 1999.
- PERRY, D. A.; AMARANTHUS, M. P.; BORCHERS, J. G.; BORCHERS, S. L.; BRAINERD, R. E. Bootstrapping in ecosystems. **BioScience**, v. 39, n. 4, p. 230-237, 1989.
- PICCOLO, A.; ZENA, A.; CONTE, P. A comparison of acid hydrolyses for the determination of carbohydrates in soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.27, p.2909-2915, 1996.
- ROGERS, B.F.; TATE, R.L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 1389-1401, 2001.
- ROSSELÓ-MORA, R.; AMANN, R. The species concept for prokaryotes. **FEMS Microbiology Review**, v. 25, p. 39-67, 2001.

ROSSWALL, T. The internal cycle between vegetation, microorganisms and soils. **Ecological Bulletin**, v.22, p.157-167, 1976.

SEGHERS, D.; VERTHÉ, K.; REHEUL, D.; BULKE, R.; SICILIANO, S.D.; VERSTRAETE, W.; TOP, E.M. Effect of long-term herbicide applications on the bacterial community structure and function in an agricultural soil. **FEMS Microbial Ecology**, v.46, p.139-146, 2003.

SINSABAUGH, R.L. Enzymatic analysis of microbial pattern and process. **Biology and Fertility of Soils**, v.17, p. 69-74, 1994.

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

THOMAS, V.G.; KEVAN, P.G. Basic principles of agroecology and sustainable agriculture. **Journal of Agricultural Environment and Ethnology**, v.5, p.1-18, 1993.

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

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

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

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

VRIES, F.T.; HOFFLAND, E.; EEKEREN, N.; BRUSSAARD, L.; BLOEM, J. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. **Soil Biology and Biochemistry**, v.38, p. 2092–2103, 2006.

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