



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VIVIAN NOGUEIRA MARQUES CERVANTES

**BIOINDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO SOB
DIFERENTES INTENSIDADES DE USO NA REGIÃO DOS
CAMPOS GERAIS, PARANÁ**

VIVIAN NOGUEIRA MARQUES CERVANTES

**BIOINDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO SOB
DIFERENTES INTENSIDADES DE USO NA REGIÃO DOS
CAMPOS GERAIS, PARANÁ**

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

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira.
Co-orientador: Dr. André Shigueyoshi Nakatani.

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Cervantes, Vivian Nogueira Marques .

Bioindicadores de qualidade do solo sob diferentes intensidades de uso na região dos Campos Gerais, Paraná / Vivian Nogueira Marques Cervantes. - Londrina, 2017.
80 f.

Orientador: Marco Antonio Nogueira.

Coorientador: André Shigueyoshi Nakatani.

Tese (Doutorado em Microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Microbiologia do solo - Tese. 2. Enzimas do solo - Tese. 3. Análise multivariada - Tese. 4. Plantio direto - Tese. I. Nogueira, Marco Antonio . II. Nakatani, André Shigueyoshi. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. IV. Título.

VIVIAN NOGUEIRA MARQUES CERVANTES

**BIOINDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO SOB DIFERENTES
INTENSIDADES DE USO NA REGIÃO DOS CAMPOS GERAIS,
PARANÁ**

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

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
Embrapa-Soja

Dra. Mariangela Hungria
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
Embrapa-Soja

Dr. Henrique Debiasi
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
Embrapa-Soja

Dra. Paula Cerezini
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
Embrapa-Soja

Dr. Artur Berbel Lirio Rondina
Faculdades Integradas de Ourinhos - FIO

Londrina, 12 de setembro de 2017

AGRADECIMENTOS

A Deus por colocar as pessoas certas em meu caminho.

Aos meus pais Brígida e Antonio e ao meu irmão Thiago, por serem meus primeiros exemplos, por todo auxílio, apoio, orações, por me incentivarem nos estudos e a não desistir.

Ao meu esposo Fernando, pelo apoio, incentivo, compreensão, orações e por me ouvir nos momentos mais difíceis.

A minha vó Teresinha (*in memoriam*), pelo seu exemplo de fibra, e pelas orações que creio que realiza por mim diante de Deus.

Aos meus sogros Adelaide e Jair, e demais familiares pela compreensão e orações.

À minha cunhada Carol e sua família pelo carinho e orações.

Aos amigos padre Manuel Joaquim, aos grupos de casais, membros das pastorais da liturgia e dos ministros e grupo de jovens Ruah - da Paróquia Sant'Ana - pela amizade, companheirismo, compreensão e orações. Em especial agradeço à Cintya Assunção e à Ana Putinatti.

À psicóloga Simone Oliani, pelo profissionalismo e amizade.

Ao meu orientador Dr. Marco Antonio Nogueira, pela atenção, paciência, dedicação e disponibilidade durante a realização deste trabalho. A sua orientação, nesses anos, contribuiu para minha formação pessoal e acadêmica.

À Dra. Mariangela Hungria, pelo carinho e conselhos durante o estágio na Embrapa Soja.

Aos membros da banca Dr. Artur Rondina, Dr. Henrique Debiasi e Dra. Paula Cerezini por dedicarem seu tempo para aperfeiçoar essa pesquisa.

Aos funcionários e amigos do Laboratório de Biotecnologia do Solo pelas caronas, momentos de descontração e auxílio no desenvolvimento do trabalho: Dona Rosa, Eduara, Lígia, Rinaldo, Renan, Amanda, André, Andrey, Anna, Artur, Brenda, Carol, Jackson, Jake, Maira, Marcos Vinícios, Mariana, Paula, Rebeca, Renata, Ricardo e Walkyria. Em especial agradeço à Dáfila pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Universidade Estadual de Londrina e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia pela oportunidade de realizar esse curso.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À Embrapa Soja, pelos recursos disponíveis para a realização das análises.

À Fundação ABC, por disponibilizar a área para as amostragens de solo.

Ao Dr. Adriel Ferreira da Fonseca e à Jéssica Alves dos Santos, por fornecerem as informações necessárias sobre o histórico das áreas de estudo.

CERVANTES, Vivian Nogueira Marques. **Biondicadores de qualidade do solo sob diferentes intensidades de uso na região dos Campos Gerais, Paraná.** 2017. 80 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar atributos microbiológicos e bioquímicos como bioindicadores de qualidade do solo sob diferentes intensidades de uso, na Fundação ABC, em Castro, Paraná. No primeiro estudo, verificou-se quais atributos são mais sensíveis para discriminar mudanças no uso do solo comparando-se áreas manejadas há dois ou 15 anos sob plantio direto e um fragmento de floresta nativa como referência. No segundo estudo, investigou-se se tais atributos são capazes de discriminar quatro sistemas de manejo do solo: cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) ou PD com subsolagem bianual (PDS), com três formas de uso do azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) como cultura de inverno: cobertura do solo, silagem ou pastejo bovino, em uma área de cultivo intensivo destinada à produção de silagem de milho (*Zea mays* L.) no verão. Para tanto, amostras de solo foram obtidas na profundidade 0-10 cm e foram avaliadas, em ambos os estudos, o C lábil, a respiração basal (RB), o C da biomassa microbiana (CBM), o N da biomassa microbiana (NBM), a atividade das enzimas desidrogenase, β -glicosidase, celulase, glutaminase e fosfatase ácida. Calculou-se o quociente metabólico (qCO_2) pela razão entre RB e CBM. No segundo estudo avaliaram-se, além dos atributos citados anteriormente, a atividade das enzimas asparaginase e urease, e as taxas de amonificação e de nitrificação. Os indicadores microbiológicos e bioquímicos apresentaram diferentes sensibilidades quanto ao uso do solo. No primeiro estudo, os atributos relacionados ao ciclo do C (CBM e atividade da celulase) foram mais sensíveis para discriminar a conversão de floresta para agricultura, enquanto que os atributos do ciclo do N (NBM e atividade da glutaminase) foram mais sensíveis em discriminar o tempo de manejo sob PD das áreas agrícolas. No segundo estudo, foi observado efeito do manejo do solo dois anos após a instalação do experimento. Os solos sob PD e PDS apresentaram maior biomassa e atividade microbiana e menor qCO_2 . Após cinco anos, foi observado efeito da interação manejo do solo e uso do azevém. O solo com azevém mantido em cobertura, independente do manejo, apresentou maior atividade microbiana, indicando efeito positivo de práticas conservacionistas sobre os atributos microbiológicos e bioquímicos indicadores de qualidade do solo. O C lábil, o NBM, a taxa de amonificação e as atividades das enzimas desidrogenase, celulase, β -glicosidase, glutaminase e fosfatase ácida permitiram discriminar os sistemas de manejos do solo e o uso do azevém. Assim, sugerimos que os bioindicadores NBM e atividade da glutaminase sejam utilizados para avaliar a qualidade de solo na região dos Campos Gerais, Paraná.

Palavras-chave: Microbiologia do solo. Enzimas do solo. Análise multivariada. Plantio direto.

CERVANTES, Vivian Nogueira Marques. **Bioindicators of soil quality under different intensities of use in the Campos Gerais region, Paraná.** 2017. 80 p. Thesis (Doctoral Degree in Microbiology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

This research aimed to assess some microbiological and biochemical attributes as indicators of soil quality under different intensities of use in southern Brazil. In the first study, indicators of changes in land use were compared in agricultural sites managed under no-tillage (NT) for two or 15 years, and under a native forest fragment (NF) as reference. In the second study, we checked whether these attributes differed in terms of discrimination capacity between four soil management: conventional tillage (CT), minimum tillage (MT), NT and chiseled no-tillage (CNT), with three uses of ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) in winter: cover crop, silage or forage for cattle grazing. Soil samples were taken at a 0-10 cm depth to assess, in both studies: labile C, basal respiration (BR), microbial biomass of C (MBC), microbial biomass of N (MBN), and activities of dehydrogenase, β -glucosidase, cellulase, glutaminase and acid phosphatase. The metabolic quotient ($q\text{CO}_2$) was the ratio between BR and MBC. In the second study, we also assessed the activities of asparaginase and urease, ammonification and nitrification rates. Microbiological and biochemical attributes had different sensibility to discriminate among the land uses. In the first study, the attributes related to C-cycling (MBC and activity of cellulase) were the most effective in discriminating the conversion of native forest to agricultural. On the other hand, the attributes related to N-cycling (MBN and activity of glutaminase) were more effective in discriminating between the time elapsed since adoption of NT in agricultural areas. In the second study, soil management effect was observed in the first sampling. NT and CNT showed the highest microbial biomass and activity, with the lowest $q\text{CO}_2$. After five years, in the second sampling, there was interaction between soil management and ryegrass use. Ryegrass as cover crop, irrespective soil management, showed higher microbial activity, showing positive effect of conservative practices on the microbiological and biochemical indicators of soil quality. The labile C, MBN, ammonification rate, the activities of dehydrogenase, cellulase, β -glycosidase, glutaminase and acid phosphatase were the most effective in discriminating the different soil managements and ryegrass uses in winter. We suggest MBN and glutaminase activity be used to evaluate soil quality in southern Brazil.

Keywords: Soil microbiology. Soil enzymes. Multivariate analysis. No tillage.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1	SISTEMAS DE MANEJO DO SOLO	9
2.1.1	Cultivo Convencional	9
2.1.2	Cultivo Mínimo	9
2.1.3	Plantio Direto	10
2.1.4	Plantio Direto com Subsolagem	12
2.2	COBERTURA DO SOLO NO INVERNO	12
2.2.1	Azevém	14
2.3	MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO.....	15
2.4	QUALIDADE DO SOLO E SEUS BIOINDICADORES.....	17
2.4.1	Biomassa Microbiana	18
2.4.2	Respiração Basal do Solo	18
2.4.3	Quociente Metabólico (qCO_2)	18
2.4.4	Enzimas do Solo	19
2.4.4.1	<i>Enzimas relacionadas ao metabolismo e ao ciclo do carbono</i>	20
2.4.4.2	<i>Enzimas relacionadas ao ciclo do nitrogênio</i>	21
2.4.4.3	<i>Enzima relacionada ao ciclo do fósforo</i>	21
2.4.5	Atributos relacionados ao ciclo do N	23
2.4.5.1	<i>Amonificação</i>	23
2.4.5.2	<i>Nitrificação</i>	23
2.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA	24
	REFERÊNCIAS	26
3	ARTIGO 1: SENSITIVITY OF BIOINDICATORS OF SOIL QUALITY IN DISCRIMINATING CHANGES IN SOIL USE IN SOUTHERN BRAZIL	34

4	ARTIGO 2: BIOINDICADORES DE QUALIDADE DE SOLO SOB SISTEMA DE PRODUÇÃO DE FORRAGEM DE ALTA INTENSIDADE NO SUL DO BRASIL	49
5	CONCLUSÕES GERAIS.....	80

1 INTRODUÇÃO

O aumento da sustentabilidade dos sistemas agrícolas, aliada à manutenção de sua capacidade produtiva, é uma grande preocupação do ponto de vista ambiental, uma vez que se diminui a pressão sobre novas áreas, normalmente cobertas por vegetação nativa, que precisam ser preservadas.

Sistemas de manejo de solo que visam reduzir os impactos negativos, ou ainda, melhorar as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo são fundamentais para o aumento da sustentabilidade das áreas de produção. Desse modo, o solo deve ser utilizado racionalmente para permitir rendimentos econômicos com o mínimo impacto ambiental. Para tanto, é essencial dispor de atributos que permitam uma avaliação rápida da qualidade do solo.

Nesse contexto, atributos microbiológicos têm sido utilizados com sucesso como bioindicadores de qualidade do solo, por serem sensíveis aos impactos provocados pelos diferentes tipos de uso e manejo. Com os resultados obtidos até o momento, um indicador apenas não é capaz de fornecer todas as informações necessárias para se avaliar a qualidade do solo. É necessário, portanto, um conjunto mínimo de indicadores. Dentre os diversos bioindicadores que podem ser utilizados, aqueles relacionados aos ciclos do carbono e dos nutrientes são mais adequados para melhor compreender os processos biogeoquímicos que ocorrem no solo.

Dentre os sistemas de manejo conservacionistas empregados no Brasil com a finalidade de preservar ou recuperar a qualidade do solo, destaca-se o sistema plantio direto (PD), cuja adoção no país teve início na década de 1970. Caracteriza-se pela manutenção da cobertura do solo com restos vegetais, rotação de culturas, e mínimo revolvimento, limitado à linha de semeadura. Apesar de o mínimo revolvimento do solo ser um dos princípios do PD, nos últimos anos, algumas práticas de revolvimento com grades, escarificador ou subsolador vêm sendo associadas a esse sistema de manejo, o que pode comprometer a sua sustentabilidade.

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar atributos microbiológicos e bioquímicos como bioindicadores de qualidade do solo sob diferentes manejos e usos em Castro-Paraná. Em um primeiro experimento, investigaram-se quais atributos foram mais sensíveis para discriminar mudanças profundas no uso do solo, como a conversão da floresta nativa para agricultura, ou pequenas mudanças, como o tempo de adoção do PD. Para tanto, foram avaliados indicadores microbiológicos e bioquímicos de qualidade em solo manejado sob PD por 2 ou 15 anos, e comparadas com um fragmento de floresta nativa como referência.

Em um segundo experimento, foram avaliados os impactos do manejo do solo e do uso de uma cultura de inverno sobre a qualidade de solo, em um sistema de produção de forragem de alta intensidade, por meio de atributos microbiológicos e bioquímicos. Investigou-se se tais atributos são capazes de discriminar quatro sistemas de manejo do solo: cultivo convencional, cultivo mínimo, PD ou PD com subsolagem bianual, e três formas de uso do azevém como cultura de inverno: mantido como cobertura do solo, para silagem ou pastejo bovino (integração lavoura-pecuária), aos dois e sete anos após a implementação do experimento, em um sistema intensivo de produção de milho para silagem no verão.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SISTEMAS DE MANEJO DO SOLO

2.1.1 Cultivo Convencional

O cultivo convencional consiste no revolvimento do solo por meio de operações de aração e gradagem com a finalidade de criar condições que se acreditava ser favoráveis para o estabelecimento das culturas (LISBOA *et al.*, 2012). O arado de discos corta o solo e a vegetação, sendo utilizado também para incorporar corretivos, fertilizantes, resíduos vegetais e plantas daninhas, ou para descompactação superficial. As gradagens quebram os torrões e nivelam a camada arada de solo (SILVEIRA *et al.*, 2001). Entretanto, o revolvimento do solo rompe os agregados e promove maior contato entre os resíduos vegetais e o solo. Esses fatores estimulam, temporariamente, a microbiota a degradar a matéria orgânica do solo (LISBOA *et al.*, 2012). Do ponto de vista da conservação do solo, as maiores desvantagens no emprego da aração e gradagem são não deixar resíduos culturais na superfície do solo e promover sua desagregação, o que pode intensificar as perdas de solo por erosão (ALVARENGA; CRUZ; PACHECO, 1987).

As razões para preparar o solo eram: (1) propiciar uma sementeira adequada, dado os equipamentos disponíveis, incapazes de operar na presença de resíduos culturais na superfície do solo; (2) reduzir a compactação do solo para promover o enraizamento da cultura; (3) incorporar fertilizante e calcário; (4) controlar plantas daninhas como complemento aos herbicidas; (5) enterrar resíduos culturais para controle de alguns tipos de patógenos de plantas; (6) aquecer o solo em regiões úmidas e mais frias; e (7) seguir a tradição (GEBHARDT *et al.*, 1985).

No entanto, o aperfeiçoamento das semeadoras, a disponibilidade de herbicidas mais eficientes para o controle de plantas daninhas e estratégias alternativas para seu controle em pré-emergência reduziram a necessidade das práticas de preparo convencional do solo (FENG *et al.*, 2003).

2.1.2 Cultivo Mínimo

O cultivo mínimo é mais rápido e requer menos combustível que o preparo convencional (TEBRÜGGE; DÜRING, 1999). Tem como objetivo a redução das operações

agrícolas de preparo do solo para a semeadura e a menor profundidade do distúrbio no solo (CANNEL, 1985). Tebrügge e Düring (1999) e Gabriel Filho (2000) consideraram o uso de diferentes implementos com ação superficial e que mantêm boa parte dos resíduos culturais na superfície do solo como cultivo mínimo. Observa-se que não há uma padronização quanto ao manejo do solo em cultivo mínimo, o que dificulta a comparação de seus efeitos com outros trabalhos que utilizaram esse manejo. Nessa pesquisa, o cultivo mínimo foi considerado como o manejo realizado anualmente, no mês de março, ao final do ciclo de cultivo de verão, com grade niveladora a 10 cm de profundidade (SANTOS *et al.*, 2017). A grade niveladora tem o objetivo de nivelar o terreno com conjuntos de discos organizados na forma de “V”, devendo ser usada antes da semeadura. Esse equipamento é útil para triturar o resíduo vegetal depositado na superfície do solo após a colheita, romper a camada superficial adensada, controlar plantas daninhas no estágio inicial de desenvolvimento, e enterrar sementes, adubos ou corretivos distribuídos a lanço (SÉGUY *et al.*, 1984).

2.1.3 Plantio Direto

O plantio direto é definido como um sistema de semeadura ou plantio de culturas realizado em solo não preparado previamente, abrindo um sulco de largura e profundidade suficientes para uma adequada distribuição de sementes ou mudas, sem realizar qualquer outro preparo do solo (PHILLIPS; YOUNG, 1973). O sucesso desse sistema requer que o solo se mantenha coberto com resíduos culturais na superfície, rotação de culturas, assim como um eficiente controle de plantas daninhas, normalmente dependente de herbicidas químicos (DERPSCH *et al.*, 2014).

Os primeiros experimentos sobre o plantio direto no Brasil se iniciaram em abril de 1971, em Londrina, Paraná, no extinto Instituto de Pesquisa IPEAME (atual EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Algumas parcelas demonstrativas foram estabelecidas na fazenda do Sr. Herbert Bartz, em Rolândia-Paraná. Esses experimentos bem sucedidos o motivaram e ele se tornou o primeiro agricultor a utilizar o plantio direto no Brasil, com a semeadura de soja em outubro de 1972 (DERPSCH, 1984).

Para que o país atingisse o primeiro milhão de hectares sob plantio direto passaram-se quase 20 anos (DERPSCH *et al.*, 2010). No início, a falta de máquinas adequadas para a semeadura e a dificuldade de controlar as plantas daninhas foram as principais limitações da adoção do plantio direto pelos agricultores (DERPSCH, 1984). Posteriormente, esse sistema experimentou um crescimento exponencial (DERPSCH *et al.*,

2010). De acordo com dados da Federação Brasileira de Plantio Direto e Irrigação (FEBRAPDP, 2017), a área sob plantio direto no Brasil passou de 180 hectares em 1972 para quase 32 milhões de hectares em 2012, e representa 70% da área destinada à produção de grãos no país, sendo um dos líderes mundiais em área de adoção do plantio direto (DERPSCH *et al.*, 2010).

Inicialmente, o plantio direto se expandiu, principalmente, nos Estados da região sul do Brasil; e na década de 90, a maior expansão do plantio direto ocorreu na região do Cerrado (BOLLIGER *et al.*, 2006). Algumas das razões para a ampla expansão da área sob plantio direto no Brasil foram: o melhor controle da erosão e da degradação físico-química do solo provocada pela agricultura intensiva; desenvolvimento de herbicidas mais eficientes e máquinas de semeadura adequadas, economia de tempo, mão-de-obra e combustível, bem como maior retorno econômico ao produtor (DERPSCH, 2000; DERPSCH *et al.*, 2010).

As práticas de plantio direto conservam o solo em relação às práticas convencionais (FENG *et al.*, 2003). No plantio direto, a permanência dos resíduos vegetais na superfície do solo o protege contra a erosão no período entre dois cultivos e favorece a atividade microbiana pelo acúmulo de matéria orgânica e nutrientes, sendo estes os aspectos mais positivos do sistema em médio e longo prazo. A cobertura vegetal permanente também contribui para amenizar os extremos de temperatura, bem como reter água no solo em períodos prolongados de estiagem (COLOZZI FILHO; ANDRADE, 2006).

O acúmulo dos resíduos das culturas comerciais e os das plantas de cobertura acarretam, ao longo dos anos, em um aumento lento e gradual no teor de matéria orgânica após seis ou sete anos da adoção do plantio direto, principalmente na camada de 0 a 10 cm, pois a taxa de decomposição da palha mantida na superfície é menor do que quando incorporada ao solo (LOPES *et al.*, 2004). Desse modo, o plantio direto tende a se reaproximar do que ocorre em uma área com vegetação nativa, no que se refere ao teor de matéria orgânica, com viabilidade econômica, incluindo ganhos em produtividade e maior sustentabilidade do agroecossistema (ROLDÁN *et al.*, 2007; KASCHUK; ALBERTON; HUNGRIA, 2010).

Alguns dos principais desafios associados aos sistemas produtivos sob plantio direto são: manejar eficazmente a cobertura permanente do solo e a sua fertilidade, as plantas daninhas e as pragas sem a dependência total dos agroquímicos, e equipamentos adequados para vários tipos de solos, declividades e níveis de mecanização. Essa complexidade pode, ainda, aumentar em sistemas integrados, como por exemplo, com a pecuária (BOLLIGER *et al.*, 2006).

2.1.4 Plantio Direto com Subsolação

O aumento da densidade do solo resultante da compactação aumenta a resistência à penetração das raízes, reduz a aeração, resultando em menor taxa de mineralização da matéria orgânica e difusão lenta dos nutrientes e oxigênio para as raízes (SÉGUY *et al.*, 1999). Dentre as operações de descompactação do solo em plantio direto, escarificadores e subsoladores são os implementos mais usados, devido à maior capacidade de penetração e mobilização, com menor intensidade de revolvimento do solo, em relação aos arados de discos ou grades (ARAÚJO, 1999). A maioria dos escarificadores opera de 20 a 25 cm de profundidade; quando atingem maiores profundidades, são chamados de subsoladores. Esse processo pode ser descrito como ação de uma ferramenta estreita que rompe as camadas compactadas do solo, com o objetivo de diminuir sua resistência à penetração, aumentar a aeração e a drenagem interna do solo, de modo a diminuir o escoamento superficial e o tempo de encharcamento (TAYLOR; BELTRAME, 1980).

Câmara e Klein (2005) realizaram escarificação em área sob semeadura direta durante seis anos e a operação provocou melhoria nas propriedades físicas do solo, como redução da densidade do solo e maior infiltração de água. Seis meses após o manejo mecânico, os restos culturais na superfície do solo foram semelhantes aqueles sem revolvimento, e foi observado efeito residual da escarificação transcorrido um ano da operação. Entretanto, ainda há muitas controvérsias quanto à eficácia do revolvimento do solo em áreas sob plantio direto, visto que a prática pode estimular a mineralização de formas estáveis de carbono no solo e os sintomas da degradação física retornam novamente em curto prazo.

2.2 COBERTURA DO SOLO NO INVERNO

As culturas de cobertura cumprem múltiplas funções agronômicas, ecológicas ou econômicas, em complemento às realizadas pelas culturas principais (CALEGARI, 2002; FLORENTIN *et al.*, 2001). A principal função das culturas de cobertura é a produção de biomassa e cobrir o solo durante os períodos em que os recursos disponíveis são limitados ou irregulares para uma cultura comercial. Além da quantidade de biomassa produzida, a cobertura deve ser distribuída uniformemente sobre o terreno e ser mantida até que a cultura seguinte tenha se desenvolvido o suficiente para proteger o solo (FURLANI *et al.*, 2003).

As funções das culturas de cobertura incluem: (1) fornecer forragem, alimentos e produtos comerciais secundários ou de subsistência para gado e humanos; (2) converter recursos que não seriam utilizados, como a luz solar e a umidade residual do solo, em biomassa adicional e, após a degradação de seus resíduos, permitir o acúmulo de matéria orgânica; (3) imobilizar temporariamente nutrientes facilmente lixiviáveis (nitrato, K, Ca e Mg), que poderiam ser perdidos além da zona de raízes das culturas comerciais; (4) melhorar da estrutura do solo e amortecimento contra a compactação, por criar canais radiculares adicionais e estimular a atividade biológica do solo através da exsudação radicular; (5) potencializar o manejo de solos ácidos pela liberação de compostos orgânicos que podem deslocar o cálcio através do perfil do solo, melhorando o ambiente radicular; (6) facilitar o manejo de plantas daninhas por competição e alelopatia, evitando seu efeito nocivo à cultura principal; e (7) interromper o ciclo de certas pragas e doenças que poderiam ser favorecidas em sistemas de monocultura contínua (BOLLIGER *et al.*, 2006). Por outro lado, as culturas de cobertura incorrem em custos extras na forma de sementes, agroquímicos, mão-de-obra para sua implantação e manutenção, bem como o custo de equipamentos, enquanto que os benefícios dessa prática podem levar tempo para se manifestarem (BOLLIGER *et al.*, 2006). No entanto, em razão dos benefícios associados, o uso de culturas de cobertura torna-se um investimento rentável em longo prazo, visando aumentar a estabilidade dos agroecossistemas (FRANCHINI *et al.*, 2012).

Boller e Gamero (1997) expõem que o uso de uma cultura de inverno com a finalidade exclusiva de produzir biomassa vegetal para a cobertura do solo mostrou-se viável economicamente, porém, desvantajoso sob o ponto de vista energético. O aproveitamento de parte da biomassa produzida para a alimentação de animais pode contribuir para o balanço energético e aumentar a sustentabilidade econômica de sistemas de manejo conservacionistas do solo.

O azevém (*Lolium multiflorum* Lam.), cultivado sozinho ou em misturas, é uma das culturas de cobertura de inverno mais comuns no Brasil (CALEGARI, 2002; SCHOMBERG *et al.*, 2006). Entre os agricultores que utilizam a cobertura de inverno, a maioria possui gado de leite, o que explica a predominância da aveia preta (*Avena strigosa*) e do azevém, ambas espécies adequadas para forragem animal (BOLLIGER *et al.*, 2006).

2.2.1 Azevém

No Brasil, o azevém foi introduzido por colonizadores italianos em 1875, no Estado do Rio Grande do Sul (ARAÚJO, 1971). É uma gramínea anual, cespitosa, cujo porte chega a atingir 1,2 m de altura. Os colmos são cilíndricos e eretos com 30 a 60 cm de altura. Possui folhas finas, tenras e brilhantes, com 2 a 4 mm de largura. As bainhas são cilíndricas e as folhas jovens são enroladas. A lígula é curta e as aurículas são abraçantes. A inflorescência é uma espiga com duas fileiras de espiguetas, com 15 a 20 cm de comprimento, contendo cerca de 40 espiguetas arranjadas alternadamente, com 10 a 20 flores férteis por espiga (CARVALHO *et al.*, 2010).

A época de semeadura do azevém é no outono, dando-se preferência aos meses de março e abril para que as plantas, ainda jovens, aproveitem o calor dessa estação e se desenvolvam mais rapidamente de maneira que, quando entrarem no inverno, já tenham altura suficiente para serem pastejadas (CREAMER; DABNEY, 2002). O azevém é adaptado a baixas temperaturas desenvolvendo-se, sobretudo, entre o outono e a primavera. Floresce geralmente em setembro e produz quantidades apreciáveis de sementes. Ele desaparece no verão, pois conclui seu ciclo de vida na ocorrência de dias longos e temperaturas altas. Há uma relação direta entre a temperatura média ambiente e a produção do azevém, que é máxima a 22 °C. É considerado rústico, competitivo, com boa capacidade de perfilhamento e se desenvolve bem em qualquer tipo de solo, mas prefere os argilosos, férteis e com umidade adequada. Embora tolere bem a acidez, é mais exigente em fertilidade e umidade do que a aveia-preta. Porém, em condições onde o solo apresente alta deficiência de drenagem, o azevém tem seu desenvolvimento prejudicado (CARVALHO *et al.*, 2010).

A liberação de nitrogênio a partir da matéria orgânica do solo é baixa no outono nos ambientes subtropicais e temperados, uma vez que as temperaturas começam a diminuir. Se não houver adubação com nitrogênio, o desenvolvimento do azevém tem o risco de ser lento e em menor densidade, e a pastagem leva muito tempo até ter condição de ser utilizada pelos animais. A aplicação de cerca de 45 a 50 kg ha⁻¹ de N nesta fase tem possibilitado a entrada dos animais na pastagem em até 40 dias após a emergência das plântulas, com altura do pasto entre 20 e 25 cm (CARVALHO *et al.*, 2010).

A ampla utilização do azevém anual se deve à sua alta capacidade de produção de forragem e taxa de rebrota, resistência ao pastejo, apresentar alto valor nutritivo pelo elevado teor de proteína e composição mineral equilibrada, e alta palatabilidade aos animais. Possui alta ressemeadura natural, além de fácil aquisição de sementes e baixo custo

de implantação (REIS; DANELLI, 2011). Por essas características, é bastante atrativo para uso no inverno, especialmente na região sul do Brasil, seja para cobertura de solo em áreas sob PD, seja para pastejo animal.

2.3 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO

A entrada de C orgânico no solo ocorre, principalmente, pelo resíduo vegetal depositado na superfície e pelas raízes e seus exsudatos (PAUL *et al.*, 1997). Este C é originário do dióxido de carbono atmosférico (CO₂) que foi fixado fotossinteticamente e incorporado em compostos orgânicos nas plantas. Uma vez que os resíduos orgânicos são adicionados ao solo, eles são decompostos pelas ações combinadas da fauna e dos microrganismos do solo. Durante esse processo, a maior parte do C do resíduo (cerca de 70%) é devolvido à atmosfera como CO₂, através da respiração microbiana e da fauna (JENKINSON; ADAMS; WILD, 1991). O restante do C adicionado, incluindo o incorporado à biomassa microbiana, sofre transformações posteriores com a eventual formação de substâncias húmicas (relativamente recalcitrantes). Estes materiais podem ainda ser estabilizados pela formação de complexos com minerais presentes no solo (SOLLINS; HOMANN; CALDWELL, 1996).

A matéria orgânica do solo é uma mistura heterogênea, composta por materiais orgânicos nos mais variados graus de decomposição e por organismos vivos (BALDOCK; NELSON, 2000). É composta por duas frações: uma lábil e outra estável. A fração lábil consiste do material em transição entre os resíduos de plantas frescas e a matéria orgânica estável. Grande parte disso é tecido vegetal e microbiano em vários estágios de decomposição (HAYNES, 2005). Cabe destacar que uma das fontes de matéria orgânica mais relevantes da fração lábil é o carbono da biomassa microbiana.

A fração estável do carbono orgânico é composta por materiais orgânicos que são altamente recalcitrantes à decomposição microbiana, por causa de sua estrutura química e/ou sua associação com minerais do solo. Consiste, principalmente, em substâncias húmicas, que são sistemas complexos de moléculas orgânicas de alto peso molecular constituídas por polímeros fenólicos produzidos a partir dos produtos de degradação biológica de resíduos vegetais e animais e da atividade sintética de microrganismos (BALDOCK; NELSON, 2000). As substâncias húmicas representam 70 a 80% do teor de matéria orgânica do solo. A estrutura complexa das substâncias húmicas é, em grande parte, responsável por sua estabilidade, embora outros fatores, como a formação de complexos com argilas e a

inacessibilidade física da matéria orgânica dentro dos agregados do solo também sejam importantes para sua estabilidade (SOLLINS; HOMANN; CALDWELL, 1996).

O teor de matéria orgânica do solo é geralmente medido como C orgânico. Embora a fração orgânica dos solos represente uma proporção pequena, mas variável de sua massa, ela exerce importantes efeitos sobre as propriedades e os processos físicos, químicos e biológicos do solo (CAMPBELL, 1978).

As principais propriedades físicas do solo influenciadas pela matéria orgânica são a formação e a estabilização de agregados, retenção de água, resistência e resiliência à compactação e à variação térmica. Os principais fatores químicos afetados são as características de carga, a capacidade de troca catiônica, a capacidade tamponante, a formação de complexos solúveis e insolúveis com metais e as interações com xenobióticos, como os pesticidas (HAYNES, 2005). Em relação às propriedades biológicas, a matéria orgânica consiste na principal fonte de carbono e energia para os microrganismos e, também, em fonte de nutrientes para as plantas (IZQUIERDO *et al.*, 2005).

Em um ecossistema natural maduro há um equilíbrio no teor da matéria orgânica do solo (BALDOCK; NELSON, 2000). Nesse caso, a quantidade de carbono orgânico inserida no solo é semelhante a quantidade perdida através da respiração microbiana como CO₂. Nos solos agrícolas, as práticas de manejo afetam o teor de matéria orgânica por alterarem as entradas de carbono pelos resíduos vegetais e a taxa em que a comunidade microbiana degrada a matéria orgânica, liberando carbono para a atmosfera na forma de CO₂. Em longo prazo, o teor de matéria orgânica do solo atinge um novo estágio de equilíbrio (HAYNES, 1986).

A conversão do solo sob vegetação nativa em cultivo convencional leva a uma redução considerável nas frações da matéria orgânica lábil e estável, embora a diminuição seja mais pronunciada e ocorra primeiro nas frações lábeis (PAUL *et al.*, 1997). Essa redução é devida a diversos fatores, incluindo a alteração na composição e biomassa vegetal (NOGUEIRA *et al.*, 2006), a ruptura dos agregados induzida pelos implementos agrícolas e a exposição de material orgânico à ação microbiana, o que acelera as taxas de decomposição pela aeração induzida pelo manejo, adição de fertilizantes e corretivos (DOMINY; HAYNES, 2002).

Uma forma de amenizar a taxa de decomposição da matéria orgânica consiste em reduzir os distúrbios no solo pela conversão do cultivo convencional para cultivo mínimo ou plantio direto. Embora essas práticas resultem no acúmulo de matéria orgânica na

superfície (5 cm), seu teor no perfil do solo geralmente permanece inalterado no curto prazo (JANZEN *et al.*, 1998).

Nos sistemas agrícolas, as alterações no manejo do solo geralmente causam mudanças mais sutis no equilíbrio entre manutenção e perdas de matéria orgânica estável do solo e, portanto, são difíceis de detectar em um curto período de tempo (JOHNSTON, 1986; JANZEN, 1995). Por outro lado, a fração lábil, devido à sua maior dinâmica, é mais sensível às mudanças induzidas no teor de matéria orgânica causadas pelo manejo do solo (JANZEN *et al.*, 1998). Experimentos de campo demonstraram que as alterações induzidas pelo manejo no teor da matéria orgânica do solo ocorrem muito mais rapidamente nas frações lábeis (por exemplo, C e N da biomassa microbiana) do que no C orgânico ou N total (CAMPBELL *et al.*, 1999; GRAHAM; HAYNES; MEYER, 2002; HAYNES, 2005).

Desse modo, o teor de matéria orgânica do solo pode ser considerado fator-chave na avaliação da sustentabilidade das práticas de manejo (GREGORICH *et al.*, 1994), bem como é sugerida como o indicador mais importante da produtividade do solo (CAMPBELL, 1978; CERVANTES, 2012).

2.4 QUALIDADE DO SOLO E SEUS BIOINDICADORES

Em 1997, Doran definiu a qualidade do solo como a “capacidade de um solo funcionar dentro dos limites de um ecossistema natural ou manejado, para sustentar a produtividade de plantas e animais, manter ou aumentar a qualidade do ar e da água e promover a saúde das plantas, dos animais e dos homens”, ou seja, é a capacidade do solo exercer suas funções na natureza (VEZZANI; MIELNICZUK, 2009). Desse modo, diversos atributos do solo tem potencial para ser utilizados como indicadores da qualidade do solo.

A atividade microbiana do solo desempenha papéis importantes na sustentabilidade por manter funções essenciais na qualidade do solo, como a ciclagem de carbono e nutrientes (IZQUIERDO *et al.*, 2005). Os indicadores microbianos são mais sensíveis do que os atributos físicos e químicos às mudanças impostas ao meio ambiente, como o uso e manejo do solo (MASTO *et al.*, 2009), e por isso, podem antecipar distúrbios na sustentabilidade do ambiente. O conteúdo de C e N da biomassa microbiana, a respiração basal e a atividade de enzimas relacionadas ao metabolismo microbiano no solo ou aos ciclos biogeoquímicos são alterados com o manejo agrícola, antes que as mudanças nos atributos físicos e químicos do solo sejam detectáveis (HUNGRIA *et al.*, 2009; OBALUM *et al.*, 2017).

2.4.1 Biomassa Microbiana

A biomassa microbiana do solo é a parte viva da matéria orgânica do solo, formada por fungos, bactérias, protozoários e algas (SICARDI; GARCIA-PRECHAC; FRIONI, 2004). A biomassa microbiana é a principal responsável pela decomposição dos resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, transformação da matéria orgânica e imobilização temporária de carbono e nutrientes no solo (WARDLE; HUNGRIA, 1994).

A biomassa microbiana é um dos principais atributos biológicos utilizados nos estudos de qualidade do solo. Ela atua como fonte ou dreno de C (e outros nutrientes), e é avaliada a partir do C e dos nutrientes presentes nas células microbianas (CARDOSO *et al.*, 2013).

2.4.2 Respiração Basal do Solo

A respiração basal do solo tem sido amplamente utilizada como bioindicador da qualidade do solo, tanto em áreas florestais como agrícolas (BASTIDA *et al.*, 2008, CERVANTES, 2012). A respiração do solo, relacionada ao ciclo do C, indica a mineralização do carbono orgânico e é mensurada a partir da quantidade de CO₂ liberada (CARDOSO *et al.*, 2013). A supressão ou alteração na vegetação pode reduzir a respiração microbiana em longo prazo (BASTIDA *et al.*, 2006), devido à diminuição das entradas de carbono orgânico no solo via superfície ou rizosfera (BINI *et al.*, 2013). Nos sistemas agrícolas, o manejo do solo afeta a atividade microbiana e, em geral, aqueles menos impactantes propiciam maior atividade microbiana (BABUJIA *et al.*, 2010). Nesse cenário, a matéria orgânica regula a atividade biológica como fonte de C, energia e outros nutrientes que serão mineralizados em CO₂ e minerais. No entanto, a taxa de mineralização também dependerá da quantidade e qualidade do material orgânico no solo (ZHANG *et al.*, 2006). Simultaneamente, a biomassa microbiana imobilizará C, N, P e outros nutrientes que podem ser posteriormente facilmente liberados para uso das plantas (CARDOSO *et al.*, 2013).

2.4.3 Quociente Metabólico (qCO_2)

O quociente metabólico (qCO_2) é um índice obtido pela razão entre o C-CO₂ liberado por unidade de biomassa microbiana no tempo, e representa o estado metabólico dos microrganismos do solo (ANDERSON; DOMSCH, 1993). Índices mais altos sinalizam

condições de estresse ou entradas de carbono orgânico facilmente degradáveis, o que estimula prontamente a atividade, e conseqüentemente, a respiração microbiana (DINESH *et al.*, 2003). Dessa forma, deve-se ter cuidado ao interpretar os índices de qCO_2 .

2.4.4 Enzimas do Solo

Os indicadores bioquímicos, representados pelas enzimas, também são úteis para avaliar a qualidade do solo (Tabela 1). Eles estão envolvidos em diversos processos metabólicos e também respondem às mudanças no uso e manejo do solo (ACOSTA-MARTÍNEZ *et al.*, 2007). As enzimas são catalizadoras em diferentes reações durante o ciclo do carbono e nutrientes no solo (BALOTA *et al.*, 2004) e, ainda, representam o nível metabólico da comunidade microbiana do solo. Elas podem se encontrar livres no solo como exoenzimas, excretadas por plantas, animais e, principalmente, por microrganismos (CARDOSO *et al.*, 2013). As enzimas estão ligadas a estruturas celulares ou internamente em células, mas, posteriormente, são liberadas para o solo após a lise e morte celular (BADIANE *et al.*, 2001). Assim, quando a comunidade microbiana do solo é afetada, devido ao uso e manejo do mesmo, também são esperadas mudanças nas atividades das enzimas (NAYAK *et al.*, 2007).

Tabela 1: Relação entre os indicadores bioquímicos de qualidade do solo, microrganismos e funções exercidas nos ciclos biogeoquímicos

Enzimas	Ciclo	Função	Origem
Desidrogenase	-	Transferência de elétrons na cadeia respiratória de células vivas	Microrganismos aeróbicos
β -glicosidase	C	Oxidação do carbono	Microrganismos, plantas e animais
Celulase	C	Degradação da celulose com liberação de glicose	Fungos e bactérias
Urease, glutaminase e asparaginase	N	Mineralização do N orgânico a amônia/íon amônio	Microrganismos, plantas e animais
Fosfatase ácida	P	Mineralização do fósforo	Microrganismos, plantas e animais

Fonte: adaptada de CARDOSO *et al.* (2013).

2.4.4.1 Enzimas relacionadas ao metabolismo e ao ciclo do carbono

As desidrogenases são enzimas relacionadas ao metabolismo que promove a oxidação de substratos orgânicos pela remoção de elétrons e hidrogênios, os quais são recebidos por uma coenzima como NAD^+ ou FAD^+ . As desidrogenases são enzimas que ocorrem em células íntegras e não são ativas extracelularmente (CASIDA *et al.*, 1964).

Um dos métodos usados para avaliar a atividade de desidrogenases tem como princípio usar o TTC (cloreto de 2,3,5 trifeniltetrazólio) como o acceptor dos elétrons e H^+ , reduzindo-se a TPF (trifenilformazan), que apresenta coloração vermelha, podendo ser facilmente determinado por absorvância (CASIDA *et al.*, 1964).

A análise da atividade de desidrogenases avalia a respiração associada à atividade metabólica aeróbica, não sendo, necessariamente, a medida do número de microrganismos presentes. Diferenças entre a atividade de desidrogenases, avaliada pelo método do TTC, e a atividade respiratória basal do solo, podem ser atribuídas ao fato de o TTC servir como acceptor de elétrons apenas quando outros aceptores presentes no solo já foram utilizados (CASIDA *et al.*, 1964).

A celulase é uma enzima do ciclo do C que catalisa a hidrólise da celulose a unidades de celobiose, que é um dissacarídeo formado por unidades de glicose em ligação glicosídica β 1,4. A celobiose é, posteriormente, hidrolisada pela β -glicosidase, de tal modo que a hidrólise total da celulose resulta em moléculas de glicose. O princípio do método para estimar a atividade de celulase no solo é a incubação da amostra de solo com o substrato da enzima (a carboximetilcelulose), avaliando-se, então, a quantidade de açúcares redutores produzidos, expressos na forma de glicose (SCHINNER; VON MERISI, 1990).

A β -glicosidase tem sido detectada em bactérias, fungos e plantas. Os produtos da hidrólise são importantes fontes de energia para os microrganismos do solo. O substrato utilizado para avaliar a atividade da β -glicosidase em amostras de solo é o *p*-nitrofenil- β -D-glicosídeo. Esse substrato é incolor, enquanto o produto da hidrólise, o *p*-nitrofenol, apresenta cor amarela, e é determinado por espectrofotometria. A atividade da β -glicosidase se correlaciona positivamente com o teor de carbono orgânico do solo e é inativada quando aquecida a 70 °C (EIVAZI; TABATABAI, 1988).

2.4.4.2 Enzimas relacionadas ao ciclo do nitrogênio

A urease é uma enzima que catalisa a hidrólise da ureia com produção de amônia e CO_2 . É detectada em diversos animais, plantas e microrganismos (TABATABAI; BREMNER, 1972), e tem grande importância no solo devido à ureia ser uma das principais formas de fertilizante nitrogenado. Se a atividade da urease for alta, há formação rápida de amônia, que pode ser perdida para a atmosfera por volatilização. No solo úmido e ligeiramente ácido, a amônia vai se transformar no íon amônio, que pode ser absorvido pelas plantas, adsorvido às cargas negativas dos colóides, ou nitrificado, correndo o risco de se perder por lixiviação ou desnitrificação. Se a atividade da urease for baixa, a produção de N-amoniacoal pode ser menor que as exigências nutricionais da planta (TABATABAI; BREMNER, 1972).

A glutaminase é a enzima que catalisa a hidrólise de L-glutamina em ácido L-glutâmico e amônia. Já a asparaginase catalisa a hidrólise da L-asparagina no solo, liberando amônia. Ambas são encontradas no solo, e podem ser detectadas em animais, plantas e microrganismos (FRANKENBERGER; TABATABAI, 1991).

O princípio da determinação da urease, da glutaminase e da asparaginase baseia-se na quantificação de NH_4^+ liberado quando o solo é incubado em solução tamponada com o respectivo substrato da enzima a 37 °C, por 2 horas. O amônio resultante é extraído em extrato KCl 2 M contendo Ag_2SO_4 e uma alíquota do extrato é destilada a vapor com MgO (TABATABAI; BREMNER, 1972; FRANKENBERGER; TABATABAI, 1991).

2.4.4.3 Enzima relacionada ao ciclo do fósforo

O fósforo (P) é um elemento importante a todas as formas de vida, por fazer parte de biomoléculas como ácidos nucleicos e ATP (DOMINGOS *et al.*, 2003). O ciclo de P é aberto porque não passa pela atmosfera na forma gasosa; flui das rochas para o fundo dos oceanos, principalmente, na forma de sedimentos, porém, o fluxo é mais intenso entre a biota e o solo (CORRELL, 1998).

As plantas e os microrganismos do solo absorvem P na forma de ortofosfato (H_2PO_4^-) solúvel obtido da solução do solo, onde a concentração é geralmente muito baixa (2 a 5 μM) (DOMINGOS *et al.*, 2003). Devido à alta exigência das plantas e à baixa disponibilidade no solo, esse nutriente é limitante ao seu crescimento, que geralmente apresentam déficit nutricional de P (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Nos solos agrícolas, especialmente nos brasileiros, P e N são os nutrientes que mais limitam a produção, sendo necessária a aplicação desses nutrientes nas culturas. Na maioria dos solos, a maior parte do P ocorre em fração insolúvel ligada aos óxidos de Fe e Al nos solos ácidos, e a Ca nos neutros ou alcalinos (STEVENSON, 1986). A principal fonte de P para os seres vivos são as rochas fosfáticas que constituem um recurso natural não renovável, portanto, que precisa ter seu uso racionalizado. Calcula-se que cerca de 75% do P aplicado ao solo é perdido ou fica retido nas suas partículas, o que contribui para seu acúmulo nos solos cultivados (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os mecanismos de transformação do P no solo envolvem, além da retenção ou fixação nas partículas do solo por processos químicos, a liberação ou solubilização da fração de transição (lábil), mineralização e imobilização biológica mediados pelos microrganismos (TIESSSEN; STEWART; COLE, 1984). A ciclagem do P no solo tem estreita relação com os ciclos dos outros elementos via matéria orgânica. Devido à alta concentração de P nos microrganismos, o P é o segundo nutriente mais abundante na matéria orgânica do solo (STEVENSON, 1986). A atividade microbiana é responsável pela mineralização de P orgânico. Diversos microrganismos heterotróficos são capazes de hidrolisar P de compostos orgânicos através da produção de fosfatases, liberando $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ para a solução do solo. A atividade dessas enzimas pode ser um indicador da transformação da matéria orgânica do solo (TIESSSEN; STEWART; COLE, 1984).

O controle da atividade mineralizadora de fosfatos orgânicos é feito pela disponibilidade de P, fonte de carbono e pH do solo (STEVENSON, 1986). A síntese e a atividade das fosfatases microbianas são reguladas pelo teor de P no ambiente: são reprimidas em condições de alto P e estimuladas em condições limitantes do nutriente (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; MELERO *et al.*, 2008; PEIXOTO *et al.*, 2010).

As fosfatases catalisam a hidrólise da ligação éster de fosfato. Há três grupos de fosfatases, de acordo com o tipo de ligação fosfórica que hidrolisam: fosfomonoesterases, fosfodiesterases e fosfotriesterases. As fosfomonoesterases têm sido muito estudadas, pois transformam o fósforo orgânico em inorgânico, que pode ser absorvido pelas plantas. As enzimas desse grupo classificam-se em ácidas e alcalinas, dependendo do pH ótimo para a hidrólise. Tanto as fosfatases ácidas (pH ótimo = 4,0–6,5) como as alcalinas (pH ótimo = 9,0–10,0) são encontradas no solo (MELO *et al.*, 2010; NAHAS, 2015).

Os microrganismos são a principal fonte de enzimas mineralizadoras de fosfatos e são fontes exclusivas das fosfatases alcalinas. O princípio do método para avaliar a atividade das fosfomonoesterases em amostras de solo consiste em determinar o teor de p-

nitrofenol (cor amarela) liberado durante a incubação das amostras com o substrato *p*-nitrofenilfosfato de sódio (incolor), (TABATABAI; BREMNER, 1969).

2.4.5 Atributos relacionados ao ciclo do N

De todos os elementos que circulam no sistema solo-planta-atmosfera, o que sofre maior número de transformações bioquímicas no solo é o nitrogênio (STEVENSON, 1982).

2.4.5.1 Amonificação

A amonificação consiste no processo em que compostos nitrogenados orgânicos são transformados, por reações catalisadas por enzimas, a NH_3 e, em seguida, o NH_4^+ . O nitrogênio orgânico do solo tem sido caracterizado, usualmente, após a hidrólise química, como aminoácidos, amino açúcares, purinas, pirimidinas. Tais compostos representam os primeiros substratos orgânicos da reação de desaminação. Porém, podem ser obtidos outros substratos orgânicos, provenientes de hidrólises enzimáticas de substâncias com alto peso molecular, como as proteínas, aminopolissacarídeos e os ácidos nucleicos que estão presentes nas células vivas e mortas dos microrganismos e na matéria orgânica do solo (LADD; JACKSON, 1982).

Além do N orgânico proveniente das células, o solo pode recebê-lo da ureia, constituinte majoritário da urina dos animais que pastejam, e da aplicação de fertilizantes. A decomposição da ureia via urease é uma reação importante no processo de amonificação (LADD; JACKSON, 1982).

2.4.5.2 Nitrificação

O processo de nitrificação consiste na oxidação dos íons amônio (NH_4^+) a nitrato (NO_3^-). Esse processo é realizado por bactérias que vivem no solo, as bactérias autotróficas nitrificantes, como as dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. Esses microrganismos obtêm energia pela oxidação do amônio ou do nitrito, composto intermediário no processo de nitrificação (SCHMIDT, 1982). No primeiro estágio, as *Nitrosomonas* oxidam os íons amônio (NH_4^+) a nitrito (NO_2^-), enquanto que, no segundo, os íons nitrito são convertidos a nitrato (NO_3^-) pelas bactérias *Nitrobacter* (TORTORA, 2012).

As plantas utilizam o nitrato como fonte de nitrogênio para a síntese de proteínas porque ele é altamente móvel no solo e encontra a raiz da planta mais facilmente do que os íons amônio (NH_4^+). A forma amoniacal seria uma fonte mais eficiente de nitrogênio, uma vez que necessita de menos energia para ser incorporada às proteínas, porém por ser carregada positivamente, está normalmente ligada à argila do solo, carregada negativamente, enquanto que os íons nitrato, carregados negativamente, estão predominantemente livres em solução (SCHMIDT, 1982).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

Com o conhecimento atualmente disponível, a estimativa da qualidade do solo considerando apenas propriedades individuais, razões ou índices simples, não pode ser considerada confiável. Desta maneira, faz-se necessário um conjunto de dados mínimos capazes de descrever a complexidade do sistema solo para cada situação. Diante desses desafios, o uso de técnicas estatísticas multivariadas representa uma ferramenta útil para selecionar atributos para avaliar a qualidade do solo (CARDOSO *et al.*, 2013).

As análises multivariadas têm sido muito usadas nas diversas áreas, pois analisam múltiplos atributos ao mesmo tempo (CARDOSO *et al.* 2013; AZEVEDO-JÚNIOR *et al.*, 2017). Assim, pode ser empregada quando há mais do que uma variável a ser analisada em um grande número de indivíduos, ou tratamentos, para estudar simultaneamente suas relações (GAUCH, 1982).

Entre as técnicas estatísticas de análise multivariada, destacam-se a análise de componentes principais (ACP) e a análise canônica discriminante (ACD). A ACP é uma técnica que transforma um conjunto de variáveis originais em um conjunto menor de variáveis, as quais são combinações lineares das primeiras (componentes principais), que contêm a maior parte da variabilidade inicial dos dados (DASYKOWSKI *et al.*, 2007). Ela possui vários benefícios como: gera novas variáveis que expressem a informação contida em um conjunto de dados; elimina as variáveis (quando possível) que sejam pouco relacionadas ao problema de estudo; reduz a dimensão de espaço onde estão inscritos os dados; facilita a interpretação da informação contida num conjunto de dados; proporciona uma matriz de correlações que permite avaliar os graus de correlação entre as variáveis (GAUCH, 1982; DASYKOWSKI *et al.*, 2007). A primeira componente principal (CP 1) explica o maior grau de variabilidade e este vai diminuindo à medida que sua ordem aumenta (CP 2, CP 3... CP n). O número de componentes principais que devem ser analisados depende da porcentagem da

variabilidade que é explicada em cada componente principal, e a forma gráfica dos dados ajuda na interpretação dos resultados (DASYKOWSKI *et al.*, 2007). De acordo com Sena *et al.* (2002), a ACP foi utilizada para discriminar cultivos convencionais, regiões florestais e áreas com manejos menos intensivos, além de demonstrar os parâmetros mais importantes para caracterizar cada região. Um dos principais atributos encontrados para discriminar as áreas foi a biomassa microbiana.

ACD, por sua vez, é uma ferramenta que permite não só a identificação de diferenças existentes entre tratamentos, mas também a compreensão das relações existentes entre os atributos do solo e as áreas analisadas (CRUZ-CASTILLO *et al.*, 1994; SCHEEREN *et al.*, 2000). A ACD torna-se uma ferramenta importante nos estudos de microbiologia do solo quando se pretende identificar quais são os atributos biológicos que mais contribuem para a separação das áreas estudadas (BARETTA *et al.*, 2005). Esta abordagem consiste em identificar o atributo que seja mais relevante para a separação e considerá-lo como um indicador sensível para avaliação dos impactos da intervenção antrópica. Além disso, os grupos de variáveis analisadas podem ser visualizados em um espaço multidimensional, muitas vezes menor que o original, e os coeficientes das funções discriminantes indicarão a contribuição das variáveis originais para cada função (SCHEEREN *et al.*, 2000). Baretta *et al.* (2006) avaliaram o efeito de sistemas de preparo e cultivo do solo sobre a diversidade de animais da fauna edáfica, e a partir da ACD, foi possível separar preparos conservacionistas, com sucessão de culturas, de tratamentos com rotação de culturas.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; CRUZ, L.; SOTOMAYOR-RAMÍREZ, D.; PÉREZ-ALEGRÍA, L. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. **Applied Soil Ecology**, v. 35, p. 35–45, 2007.
- ALVARENGA, R. C.; CRUZ, J. C.; PACHECO, E. B. Preparo do solo. **Informe Agropecuário**, v. 13, n. 147, março, 1987.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient from CO_2 (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 25, p. 393–395, 1993.
- ARAÚJO, A. A. **Principais gramíneas do Rio Grande do Sul: agrostologia riograndense**. Porto Alegre: Sulina, 1971.
- ARAÚJO, A. G. Máquinas para descompactação de solos. In: CASTRO FILHO, C.; MUZILLI, O. (Org.). **Uso e manejo de solos de baixa aptidão agrícola**. Londrina: Iapar, 1999. p. 168–178.
- AZEVEDO-JÚNIOR, R. R.; SANTOS, J. B. dos; BARETTA, D.; RAMOS, A. C.; PEREIRA, A. P. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Chemical and biological soil properties in organic and conventional management systems of *Coffe Arabica* L. **Journal of Nutrition**, n. just-accepted, p. 00-00, 2017.
- BABUJIA, L. C.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BROOKES, P. C. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 2174–2181, 2010.
- 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.
- BALDOCK, J. A.; NELSON, P. N. Soil organic matter. In: SUMNER, M. E. (Org.). **Handbook of soil science**. Florida: CRC Press, Boca Raton, 2000. pp. B25–B84.
- 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.
- BARETTA, D.; SANTOS, J.C.P.; FIGUEIREDO, S.R.; KLAUBERG-FILHO, O. Efeito do monocultivo de pinus e da queima do campo nativo em atributos biológicos do solo no planalto sul catarinense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 5, p. 715–724, 2005.
- BARETTA, D.; MAFRA, Á.L.; SANTOS, J.C.P.; AMARANTE, C.V.T.; BERTOL, I. Análise multivariada da fauna edáfica em diferentes sistemas de preparo e cultivo do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 11, p.1675–1679, 2006.

- BASTIDA, F.; MORENO, J. L.; HERNÁNDEZ, T.; GARCÍA, C. Microbiological activity in a soil 15 years after its revegetation. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38, p. 2503–2507, 2006.
- BASTIDA, F.; ZSOLNAY, A.; HERNÁNDEZ, T.; GARCÍA, C. Past, present and future of soil quality indices: a biological perspective. **Geoderma**, v. 147, p. 159–171, 2008.
- BINI, D.; SANTOS, C. A.; CARMO, K. B.; KISHINO, N.; ANDRADE, G.; ZANGARO, W.; NOGUEIRA, M. A. Effects of land use on soil organic carbon and microbial processes associated with soil health in southern Brazil. **European Journal of Soil Biology**, v. 55, p. 117–123, 2013.
- BOLLER, W.; GAMERO, C.A. Estimativas dos custos econômicos e energéticos de sistemas de preparo e de manejo do solo para a cultura do feijão. **Energia na Agricultura**, v.12, n.2, p.26-38, 1997.
- BOLLIGER, A., MAGID, J., AMADO, T. J. C., SKORÁ NETO, F., RIBEIRO, M. F. S., CALEGARI, A., RALISCH, R.; DE NEERGAARD, A. de. Taking stock of the Brazilian “zero-till revolution”: a review of landmark research and farmers' practice. **Advances in Agronomy**, v. 91, p. 49–110, 2006.
- CALEGARI, A. The spread and benefits of no-till agriculture in Paraná State, Brazil. In: UPHOFF, N. (Ed.). **Agroecological innovations: increasing food production with participatory development**. London: Earthscan, 2002. pp. 187-202.
- CAMARA, R.K.; KLEIN, V.A. Escarificação em plantio direto como técnica de conservação do solo e da água. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p. 789–796, 2005.
- CAMPBELL, C. A. Soil organic carbon nitrogen and fertility. In: SCHNITZER, M.; KHAN, S. U (Org.). **Soil Organic Matter**. New York: Elsevier, 1978. pp. 173–271.
- CAMPBELL, C. A.; LAFOND, G. P.; BIEDERBECK, O.; WEN, G.; SCHOENAU, J.; HAHN, D. Seasonal trends in soil biochemical attributes: Effects of crop management on a Black Chernozem. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 79, p. 85–97, 1999.
- CANNELL, R. Q. Reduced tillage in north-west Europe - a review. **Soil & Tillage Research**, v.5, p. 129–177, 1985.
- CARDOSO, E. J. B. N.; VASCONCELLOS, R. L. F.; BINI, D.; MIYAUCHI, M. Y. H.; SANTOS, C. A. dos; ALVES, P. R. L.; DE PAULA, A. M.; NAKATANI, A. S.; PEREIRA, J. M.; NOGUEIRA, M. A. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effect of use and management on soil health? **Scientia Agricola**, v. 70, n. 4, p. 274-289, 2013.
- CARVALHO, P. C. F.; SANTOS, D. T.; GONÇALVES, E. N.; MORAES, A.; NABINGER, C. Forrageiras de clima temperado. In: FONSECA, D. M.; MARTUSCELLO, J. A. (Org.). **Plantas forrageiras**. Viçosa: UFV, 2010, v. 1, p. 494–537.
- CASIDA, L. E.; KLEIN, D. A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, v. 98, p. 371–376, 1964.

CERVANTES, V. N. M. **Atributos microbiológicos do solo auxiliam na explicação de níveis de produtividade de soja sob plantio direto no Paraná.** 2012. 58 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

COLOZZI FILHO, A.; ANDRADE, D. S. Organismos do solo e atividade microbiana no plantio direto. In: CASÃO JUNIOR, R.; SIQUEIRA, R.; MEHTA, Y. R.; PASSINI, J. J. (Ed.). **Sistema plantio direto com qualidade.** Londrina: IAPAR; Foz do Iguaçu: ITAIPU Binacional, 2006. p. 39-52.

CORRELL, D. L. The role of phosphorus in the eutrophication of receiving waters: a review. **Journal of Environmental Quality**, v. 27, n. 2, p. 261–266, 1998.

CREAMER, N. C.; DABNEY, S. M. Killing cover crops mechanically: Review of recent literature and assessment of new research results. **American Journal of Alternative Agriculture**, v. 17, n. 1, p. 32–40, 2002.

CRUZ-CASTILLO, J. G.; GANESHANANDAM, S.; MACKEY, B. R.; LAWES, G. S.; LAWOKO, C. R. O. O.; WOOLLEY, D. J. Applications of canonical discriminant analysis in horticultural research. **HortScience**, v. 29, p.1115–1119, 1994.

DASZYKOWSKI, M.; KACZMAREK, K.; VANDER HEYDEN, Y., WALCZAK, B. Robust statistics in data analysis – a review basic concepts. **Chemometric and Intelligent Laboratory Systems.**, v. 85, p 203–219, 2007.

DERPSCH, R. Expansão mundial do plantio direto. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, set./out. 2000.

DERPSCH, R. Histórico, requisitos, importância e outras considerações sobre plantio direto no Brasil. In: TORRADO, P. V.; ALOISI, R. R. (Coord.). **Plantio direto no Brasil.** Campinas: Fundação Cargill, 1984. p. 1-12.

DERPSCH, R.; FRIEDRICH, T.; KASSAM, A.; LI, H. Current status of adoption of no-till farming in the world and some of its main benefits. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 3, n.1, p. 1–25, 2010.

DERPSCH, R., FRANZLUEBBERS, A. J., DUIKER, S. W., REICOSKY, D. C., KOELLER, K., FRIEDRICH, T., STURNY, W. G.; SÁ, J.C. M.; WEISS, K. Why do we need to standardize no-tillage research? **Soil & Tillage Research**, v. 137, p. 16–22, 2014.

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

DOMINGOS, J. B.; LONGHINOTTI, E.; MACHADO, V. G.; NOME, F. A química dos ésteres de fosfato. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 745–753, 2003.

DOMINY, C. S.; HAYNES, R. J. Influence of agricultural land management on organic matter content, microbial activity and aggregate stability in the profiles of two Oxisols. **Biology and Fertility of Soils**, v. 36, p. 298–305, 2002.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Glucosidases and galactosidases in soils. **Biology & Biochemistry**, v. 20, n.5, p. 601–606, 1988.

FEBRAPDP – Federação Brasileira de Plantio Direto e Irrigação. **Evolução da área cultivada no sistema de plantio direto na palha – Brasil**. Disponível em: <http://febrapdp.org.br/download/PD_Brasil_2013.I.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2017.

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

FLORENTIN, M. A., PEÑALVA, M., CALEGARI, A., AND DERPSCH, R. **Abonos verdes y rotación de cultivos en siembra directa en pequeñas propiedades**. San Lorenzo: MAG-GTZ, 2001. p. 85.

FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; BALBINOT JUNIOR, A.A.; TONON, B.C.; FARIAS, J.R. B.; OLIVEIRA, M.C.N.; TORRES, E. Evolution of crop yields in different tillage and cropping systems over two decades in southern Brazil. **Field Crops Research**, v.137, p.178-185, 2012.

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

FURLANI, C.E.A.; GAMERO, C.A.; LEVIEN, R.; LOPES, A. Resistência do solo à penetração em preparo convencional e semeadura direta em diferentes manejos da cobertura vegetal. **Engenharia Agrícola**, v. 23, n. 3, p.579–587, 2003.

GABRIEL FILHO, A.; PESSOA, A. C. dos S.; STROHHAECKER, L.; HELMICH, J. J. Preparo convencional e cultivo mínimo do solo na cultura de mandioca em condições de adubação verde com ervilhaca e aveia preta. **Ciência Rural**, v.30, n.6, p.953–957, 2000.

GAUCH, H. G. **Multivariate analysis in community ecology**. New York: Cambridge University Press, 1982.

GEBHARDT, M. R., DANIEL, T. C., SCHWEIZER, E. E., ALLMARAS, R. R., Conservation tillage. **Science**, v. 230, p. 625–630. 1985.

GRAHAM, M. H.; HAYNES, R. J.; MEYER, J. H. Soil organic matter content and quality: Effects of fertilizer applications, burning and trash retention on a long-term sugarcane experiment in South Africa. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 93–102, 2002.

GREGORICH, E. G.; CARTER, M. R.; ANGERS, D. A.; MONREAL, C. M.; ELLERT, B. H. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 74, p. 367–385, 1994.

HAYNES, R. J. Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: an overview. **Advances in Agronomy**, v. 85, p. 221–268, 2005.

HAYNES, R. J. **Mineral Nitrogen in the Plant-Soil System**. London: Academic Press Inc., 1986.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R.A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v.42, n. 3, p.288-296, 2009.

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

JANZEN, H. H. The role of long-term sites in agroecological research: A case study. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 75, p. 123–133, 1995.

JANZEN, H. H.; CAMPBELL, C. A.; IZAURRALDE, R. C.; ELLERT, B. H.; JUMA, N.; MCGILL, W. B.; ZENTNER, R. P. Management effects on soil C storage on the Canadian prairies. **Soil & Tillage Research**, v. 47, p. 181–195, 1998.

JENKINSON, D. S.; ADAMS, D. E.; WILD, A. Model estimates of CO₂ emissions from soil in response to global warming. **Nature**, v. 351, p. 304–306, 1991.

JOHNSTON, A. E. Soil organic matter effects on soils and crops. **Soil Use and Management**, v. 2, p. 97–105, 1986.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology & Biochemistry**, v.42, n.1, p.1–13, 2010.

LADD, J. N.; JACKSON, R. B. Biochemistry of ammonification. In: STEVENSON, F. J. (Org.). **Nitrogen in agricultural soils**, 22. 2 ed. Madison: American Society of Agronomy, 1982, pp. 173–228.

LISBOA, B. B.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, A. O. D.; MARTINS, A. F.; SELBACH, P. A. Indicadores microbianos de qualidade do solo em diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 1, p. 33–43, 2012.

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

MASTO, R. E.; PRAMOD, K.; SINGH, C. D.; PATRA, A. K. Changes in soil quality indicators under long-term sewage irrigation in a sub-tropical environment. **Environmental Geology**, v. 56, p. 1237–1243, 2009.

MELERO, S.; VANDERLINDEN, K.; RUIZ, J.C.; MADEJON, E. Long-term effect on soil biochemical status of a Vertisol under conservation tillage system in semi-arid Mediterranean conditions. **European Journal of Soil Biology**, v. 44, p. 437-442, 2008.

MELO, W. J. de; MELO, G. M. P. de; ARAÚJO, A. S. F. de; MELO, V. P. de. Avaliação da atividade enzimática em amostras de solo. In: FIGUEIREDO, M. B. V.; BURITY, H. A.; OLIVEIRA, J. P.; SANTOS, C. E. R. S.; STANFORD, N. P. (Ed.). **Biotecnologia aplicada à agricultura**: textos de apoio e protocolos experimentais. Brasília: Embrapa, 2010. v. 1, p. 153-187.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006.

NAHAS, E. Control of acid phosphatases expression from *Aspergillus niger* by soil characteristics. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 58, n. 5, p. 658–666, 2015.

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

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

OBALUM, S. E.; CHIBUIKE, G. U.; PETH, S.; OUYANG, Y. Soil organic matter as sole indicator of soil degradation. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 176, p. 1–19, 2017.

PAUL, E. A.; PAUSTIAN, K. H.; ELLIOT, E. T.; COLE, C. V. **Soil organic matter in temperate agroecosystems: long-term experiments in North America**. Florida: CRC Press, Boca Raton, 1997.

PEIXOTO, R.S.; CHAER, G.M.; FRANCO, N.; REIS JUNIOR, F.B.; MENDES, I.C.; ROSADO, A.S. A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 98, p. 403-413, 2010.

PHILIPS, S. H.; YOUNG, H. M. **No-tillage farming**. Milwaukee: Reimann Associates, INC., 1973.

REIS, E. M.; DANELLI, A. L. D. O azevém e a sanidade das lavouras de cereais de inverno: uma planta do bem ou do mal? **Revista Plantio Direto**, v. 125, set/out, p. 24–29, 2011.

ROLDÁN, A.; SALINAS GARCÍA, J. R.; ALGUACIL, M. M.; CARAVACA, F. Soil sustainability indicators following conservation tillage practices under subtropical maize and bean crops. **Soil & Tillage Research**, v. 93, p. 273–282, 2007.

SANTOS, J. A. dos; FONSECA, A. F. da; BARTH, G.; ZARDO FILHO, R. Sillage maize quality in different uses of Italian ryegrass and soil management methods after liming. **Archives of Agronomy and Soil Science**, 2017.

SCHEEREN, L. W.; GEHRARDT, E. J.; FINGER, C. A. G.; LONGHI, S. J.; SCHNEIDER, P. R. Agrupamento de unidades amostrais de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze, em função de variáveis do solo, da serapilheira e das acículas, na região de Canela, RS. **Ciência Florestal**, v. 1, n. 2, p. 39–57, 2000.

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

SCHMIDT; E. L. Nitrification in soil. In: STEVENSON, F. J. (Org.). **Nitrogen in agricultural soils**, 22. 2 ed. Madison: American Society of Agronomy, 1982, pp. 253–288.

SCHOMBERG, H. H., ENDALE, D. M., CALEGARI, A., PEIXOTO, R., MIYAZAWA, M., AND CABRERA, M. L. Influence of cover crop on potential nitrogen availability to succeeding crops in a Southern Piedmont Soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 42, n. 4, p. 299–307, 2006.

SÉGUY, L.; BOUZINAC, S.; MARONEZZI, A. C.; TAFFAREL, V.; TAFFAREL, J. Plantio direto do arroz de sequeiro de alta tecnologia na zona tropical úmida do centro-norte do Mato Grosso. **Informações Agronômicas**, n. 86, p. 1–28, jun. 1999

SÉGUY, L.; KLUTHCOUSKI, J.; SILVA, J. G. da; BLUEMENSCHNEIN, F. N.; DALL'ACQUA, F. M. **Técnicas de preparo do solo**: efeitos na fertilidade e na conservação do solo, nas ervas daninhas e na conservação de água. Goiânia : EMBRAPA-CNPAP, 1984.

SENA, M. M.; FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J.; TOKESHI, H.; POPPI, R. J. Discrimination of management effects on soil parameters by using principal component analysis: a multivariate analysis case study. **Soil & Tillage Research**, v. 67, p. 171–181, 2002.

SICARDI, M.; GARCIA-PRECHAC, F.; FRIONI, L. Soil microbial indicators sensitive to land use conversion from pastures to commercial *Eucalyptus grandis* (Hill ex Maiden) plantations in Uruguay. **Applied Soil Ecology**, v. 27, p. 125–133, 2004.

SILVEIRA, P. M. da; SILVA, O. F. da; STONE, L. F.; SILVA, J. G. da. Efeitos do preparo do solo, plantio direto e de rotações de culturas sobre o rendimento e a economicidade do feijoeiro irrigado. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 36, n. 2, p. 257-263, 2001.

SOLLINS, P.; HOMANN, P.; CALDWELL, B. A. Stabilization and destabilization of soil organic matter: mechanisms and controls. **Geoderma**, v. 74, p. 65–105, 1996.

STEVENSON, F. J. **Cycles of soil**: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. New York: John Wiley, 1986.

STEVENSON, F. J. Origin and distribution of nitrogen in soil. In: STEVENSON, F. J. (Org.). **Nitrogen in agricultural soils**, 22. 2 ed. Madison: American Society of Agronomy, 1982, pp. 1–42.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Assay of urease activity in soils. **American Journal of Soil Science Society**, v. 41, p. 350–352, 1972.

TABATABAI; M. A.; BREMNER, J. M. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay soil phosphatase activity. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 1, n. 4, p. 301-307, 1969.

TAYLOR, J. C.; BELTRAME, L. F. S. Por que, quando e como utilizar a subsolagem. **Lavoura Arrozeira**, v. 3, p. 34–44, 1980.

TEBRÜGGE, F.; DÜRING, R. A. Reducing tillage intensity – a review of results from a long-term study in Germany. **Soil & Tillage Research**, v. 53, p. 15–28, 1999.

TIESSEN, H.; STEWART, J. W. B.; COLE, C. V. Pathways of phosphorus transformation in soils of differing pedogenesis. **Soil Science Society of America Journal**, v. 48, n. 4, p. 853–858, 1984.

TORTORA, G. J. **Microbiologia**. 10 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012, pp. 765–789.

VEZZANI, F.M.; MIELNICZUK, J. An overview of soil quality. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 743–755, 2009.

WARDLE, D.A.; HUNGRIA, M. A biomassa microbiana do solo e sua importância nos ecossistemas terrestres. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M., (Eds.) **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p. 195-216.

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

3 ARTIGO 1: SENSITIVITY OF BIOINDICATORS OF SOIL QUALITY IN DISCRIMINATING CHANGES IN SOIL USE IN SOUTHERN BRAZIL

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar atributos microbiológicos e bioquímicos indicadores de qualidade do solo para identificar os mais sensíveis a mudanças no uso do solo, no sul do Brasil, comparando-se áreas agrícolas manejadas sob plantio direto (PD) por dois ou 15 anos, e um fragmento de floresta nativa (FN). A amostragem de solo foi realizada no verão (janeiro) de 2013, em Castro, Paraná. As avaliações da camada 0-10 cm incluíram: respiração basal (RB), C da biomassa microbiana (CBM), N da biomassa microbiana (NBM), atividade das enzimas desidrogenase, β -glicosidase, celulase, glutaminase e fosfatase ácida. Os dados foram submetidos à análise de componentes principais (ACP), análise canônica discriminante (ACD) e correlação simples de Pearson. A FN apresentou os maiores valores de RB, CBM, NBM, celulase e fosfatase ácida. As áreas agrícolas apresentaram maior atividade da desidrogenase; e o PD15, maior atividade da glutaminase que o PD2 anos. O CBM, a celulase e a fosfatase ácida foram os atributos que mais contribuíram para discriminar a FN das áreas sob PD, enquanto que o NBM, a glutaminase e a desidrogenase foram os mais sensíveis em discriminar entre as áreas agrícolas. Sugerimos que os atributos relacionados ao ciclo do N (NBM e atividade da glutaminase) são mais sensíveis para discriminar mudanças sutis no uso do solo (por exemplo, tempo de adoção do PD), enquanto os atributos relacionados ao ciclo do C (CBM e atividade da celulase) são mais adequados para discriminar grandes mudanças no uso do solo (por exemplo, conversão da FN para agricultura).

Palavras-chave: Microbiologia do solo. Enzimas do solo. Biomassa microbiana. Plantio direto. Análise multivariada.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess attributes microbiological and biochemical indicators of soil quality in sites managed under no-tillage (NT) for two or 15 years, and compared with a reference site under native forest (NF), to identify the most sensitive indicators of changes in the land use in southern Brazil. Soil samples were taken in the summer cropping season, in Castro, Paraná State, southern Brazil. Assessments at the 0-10 cm soil layer included soil basal respiration (BR), soil microbial biomass C (MBC) and microbial biomass N (MBN), activities of dehydrogenase, β -glucosidase, cellulase, glutaminase and acid phosphatase. The dataset was submitted to principal component analysis (PCA), discriminant canonical analysis (DCA), and simple Pearson's correlation. The attributes BR, MBC, MBN, cellulose and acid phosphatase showed higher values in the NF. The sites under NT showed the highest activity of dehydrogenase, and NT for 15 years showed higher activity of glutaminase than NT for 2 years. MBC, cellulase, and acid phosphatase mainly contributed to discriminate NF from the NT, whereas MBN, glutaminase and dehydrogenase were more sensitive to discriminate between the agricultural sites. We suggest that attributes related to the N-cycling (MBN and glutaminase activity) are more sensitive to discriminate the land use effect within a similar environment (e.g. time of adoption of NT), whereas attributes related to C-cycling (MBC and

cellulase activity) are more adequate to discriminate effect of deeper changes in the land use (e.g. forest to agriculture).

Keywords: Soil microbiology. Soil enzymes. Microbial biomass. No-tillage. Multivariate analysis.

3.1 INTRODUCTION

Bioindicators of soil quality are useful to identify better strategies of soil use and management to maintain or improve soil essential functions, including carbon and nutrient cycling. Since soil bioindicators are related to the functions of living organisms, they are more sensitive to changes when compared with physical and chemical indicators. The contents of the microbial biomass C and N (MBC, MBN), basal respiration, and activity of enzymes related to the soil microbial activity or the biogeochemical cycles change with the agricultural management even before changes in soil physical and chemical attributes are detectable (HUNGRIA *et al.*, 2009; OBALUM *et al.*, 2017).

Probably reference values for bioindicators of soil quality should be specific of agroecosystems. Recently, a range of values for MBC, basal respiration, activities of β -glucosidase, cellulase, arilsulphatase and acid phosphatase in soil were related to soybean grain yield in the Brazilian Cerrado region (LOPES *et al.*, 2013). However, in regions where this range is still not established, comparisons with reference sites can be used, such as native forest fragments. Values tending for those found in a self-sustainable environment can be interpreted as tending for sustainability (NOGUEIRA *et al.*, 2006).

Among the pool of bioindicators that have been used, we must consider that they have different sensitivities do discriminate land use and management. For example, Bini *et al.* (2014) demonstrated that bioindicators related to the N-cycling in soil were more sensitive than the bioindicators related to the C-cycling to discriminate between no-tillage (NT) and conventional tillage (CT) with different cover crops in winter.

The development of soil management systems adapted to regional conditions is one of the main targets of research (SILVA *et al.*, 2016). The NT system has been broadly adopted in the recent years in Brazil, reaching about 32 million ha in the areas cropped with grains (VIEIRA *et al.*, 2016). This system keeps the soil cover with crop residues and a minimal soil movement in the sowing line (DERPSCH; FRIEDRICH, 2009), resulting in a better condition for soil and water conservation, improvement of soil fertility and biological activity that improves the sustainability of the cropping system in the long term

(HUNGRIA *et al.*, 2009). The assessment of biological and biochemical indicators in areas under NT systems are useful tools to predict if the soil use and management strategies are improving, keeping or worsening the soil processes, and thus infer on the sustainability or degradation of the system (FRANCHINI *et al.*, 2007). However, the sensitivity of the indicators may vary with the time elapsed from the adoption of the system and the intensity of land use.

This work aimed to assess microbiological and biochemical indicators of quality in soil managed under NT for two or 15 years and compare with a close native forest fragment (NF) as reference. We aimed to check whether the indicators differ in terms of discrimination capacity between deep changes in land use (e.g. native forest to agriculture) or slight changes in land use (e.g. time of adoption of NT) in Southern Brazil.

3.2 MATERIAL AND METHODS

3.2.1 Description of sites and sampling strategy

The sampling sites are located at the experimental farm “Capão do Cipó”, belonging to the ABC Foundation, Castro, Paraná, Southern Brazil. The climate is Cfb (Köppen), mesotermic, with not well-defined dry season and mild summer (hottest month below 22 °C), with 1534 mm of average annual rainfall (SANTOS *et al.*, 2017). The soil is classified as Oxisol (USDA Soil Taxonomy). A preserved mature fragment of NF (Atlantic forest) close to the agricultural sites was used as reference. All sampling sites are located within 500 m radius. Soil management under NT was adopted in the agricultural sites in the last 15 (NT15) or two (NT2) years before the sampling, so that we had two agricultural sites considered as slightly different in land use (different times under NT), whereas the conversion of NF to agricultural was considered as having strong impact on land use.

Soil sampling was performed in January 2013, during the austral summer, when the maximum soil biological activity is expected. During the sampling, the agricultural sites were under corn (*Zea mays* L.) cropping at flowering stage. Samples were taken at 0-10 cm of depth, with a steel gauge, in a 4 × 3 grid, i.e., four lines and three columns spaced of 15 m and 10 m each other, respectively. In each land use system (NT2, NT15, or NF), 12 composed soil samples were taken, one in each vertex of the grid, formed by 6 subsamples taken within a circle of 1 m of diameter. The field-moist subsamples were sieved (4 mm) and stored at 4 °C for microbial and biochemical analyses or air-dried for 72 h for chemical

analysis, that were carried out at the Laboratory of Soil Biotechnology at Embrapa Soybean, Londrina, Paraná, Brazil.

3.2.2 Soil analysis

Soil samples were assessed for the following microbiological attributes: Basal respiration (BR) (ALEF, 1995), microbial biomass C (MBC) and microbial biomass N (MBN) by the fumigation-extraction method (VANCE *et al.*, 1987) modified after Hungria *et al.* (2009) and using the extraction coefficients $K_C = 0.33$ and $K_N = 0.54$ (BROOKES *et al.*, 1985; FRANCHINI *et al.*, 2007; VANCE *et al.*, 1987). The metabolic quotient (qCO_2) was calculated by the ratio between BR and MBC (ANDERSON; DOMSCH, 1993). Several enzymes that have pivotal role in the biogeochemical cycles or microbial activity were also included: dehydrogenase (CASIDA *et al.*, 1964), β -glucosidase (TABATABAI, 1994), cellulase (SCHINNER; VON MERSI, 1990), glutaminase (FRANKENBERGER; TABATABAI, 1991) and acid phosphatase (TABATABAI; BREMNER, 1969).

Gravimetric soil moisture was determined at 105 °C for 24 h to express laboratory results in a dry basis. Before microbiological analysis, samples had the moisture adjusted to 60% of water retention capacity. Some chemical attributes (labile C, total organic carbon - TOC, and pH) were assessed. The labile C correspond to the soluble C determined in the non-fumigated samples for assessment of MBC, whereas the TOC was determined in a TOC Elementar device (TOC Cube, Vario, Germany). pH was determined in a potentiometer in a 1:2.5 soil: 0.01 mol L⁻¹ CaCl₂ solution after shaking for 30 min and settling. TOC and pH were assessed in air-dried samples.

3.2.3 Statistical analysis

A redundancy analysis (RDA) was carried out to determine which soil chemical attributes (employed as explanative variables) were significantly affected ($P < 0.05$) and non-redundant (inflation factor lower than 20) in the explanation of the variations of the microbiological and biochemical attributes. A principal component analysis (PCA) was performed to check for the relationships between the sampling sites and the assessed variables, as well as among the variables. Both analysis were carried out with the software CANOCO, version 4.5 (TER BRAAK; SMILAUER, 1988).

A discriminating canonical analysis (DCA) was carried out to determine which microbiological and biochemical attributes most contributed to discriminate the sites and verify the distance between groups ($P < 0.05$). A Pearson's simple correlation analyses was established among the attributes significantly affected by the land use as identified in the DCA. As the biochemical attributes are mostly consequence of the microbial community, some were plotted as function of MBC and MBN to represent the relationships between the microbial biomass and some enzyme activities. Analysis were carried-out with the software Statistica, version 10 (STATSOFT, 2013). The standardized canonical coefficient (SCC) represents the contribution of each attribute in the determination of the discriminant function, whereas the canonical correlation coefficient (r) shows the correlation of each attribute with the discriminating function. However, the parallel discrimination rate (PDR) takes into account these two items, given that the PDR is the product of both ($PDR = SCC \times r$) (BARETTA *et al.*, 2008). PDR values lower than 0.03 are considered as having low discrimination capacity; between 0.04 and 0.09 moderate; 0.10-0.20 good discriminators; and 0.21-0.41 are considered as having very good discrimination capacity (BARETTA *et al.*, 2010).

3.3 RESULTS

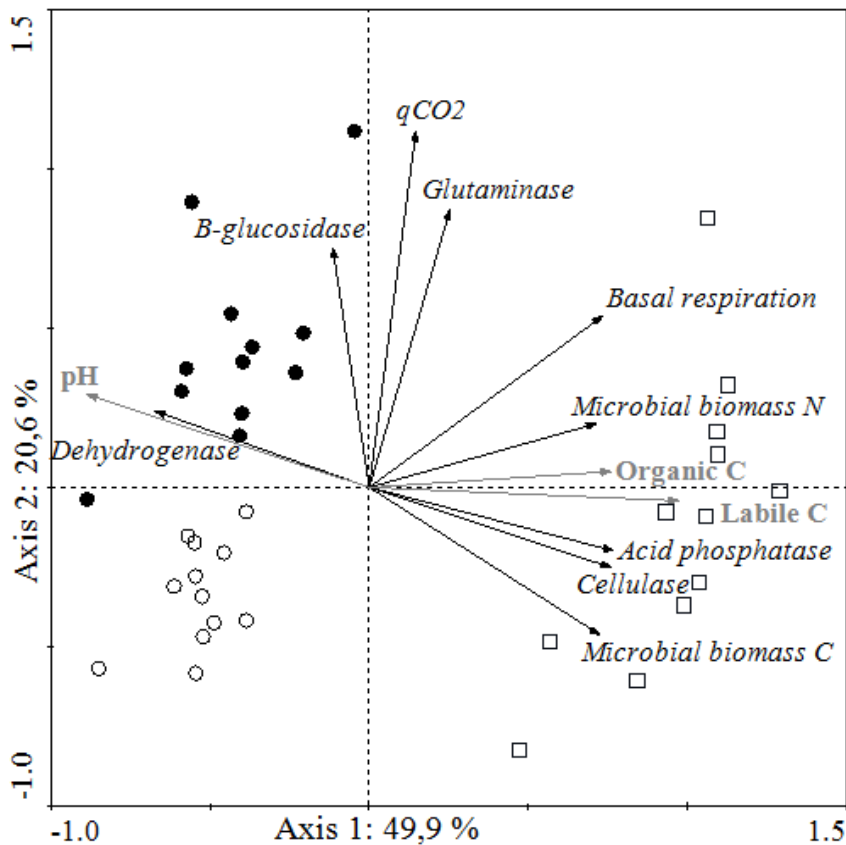
Soil samples taken from the NF showed more water content in the moment of sampling, as well as labile C and TOC as compared with the agricultural sites under NT, irrespectively of the adoption time of NT (Table 1). However, the pH under NF was very low (Table 1).

Table 1: Means (standard deviation) for water content, labile C, total organic C (TOC) and pH of soil samples from agricultural sites under no-tillage for 2 yrs (NT2), 15 yrs (NT15), or native forest (NF) (n=12).

Site	Water content (%)	Labile C (mg kg ⁻¹ solo)	TOC (g kg ⁻¹)	pH (CaCl ₂)
NF	50.5 (8.8)	793 (200.6)	69.1 (21.8)	3.7 (0.1)
NT2	34.6 (1.9)	195 (39.4)	43.5 (7.8)	5.1 (0.2)
NT15	33.9 (1.0)	199 (30.4)	42.0 (7.4)	6.0 (0.7)

The PCA revealed clear separation between the agricultural sites (NT2 and NT15) along the axis 2, which explains about 20% of the variability (Fig. 1). The axis 1 explains about 50% of the variability and clearly separate the agricultural sites from the NF. The activity of dehydrogenase was associated with agricultural sites. Metabolic quotient (qCO_2) and activities of β -glucosidase and glutaminase were associated with the NT15 site, and the NT2 site was inversely associated with most of the variables. The NF was mostly associated with MBC, MBN, and BR, and the activities of cellulase and acid phosphatase (Fig. 1).

Fig. 1: Principal component analysis (PCA) based on microbial, biochemical (\rightarrow) and chemical variables (\rightarrow) assessed in agricultural soils under no tillage for 2 (\circ) or 15 years (\bullet), and native forest (\square). qCO_2 = metabolic quotient.



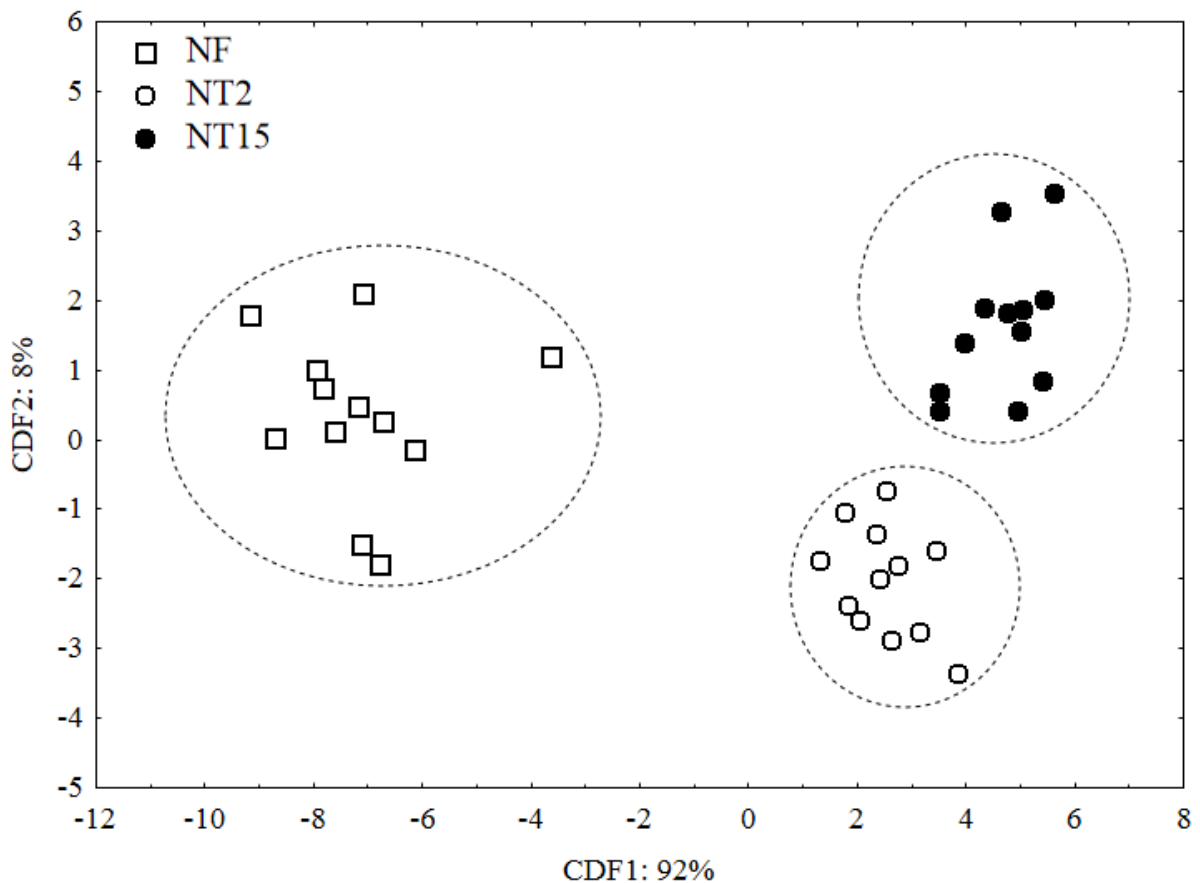
The MBC, MBN, and activities of dehydrogenase, β -glucosidase, cellulase, acid phosphatase and glutaminase significantly ($P < 0.05$) contributed to discriminate the sites (Table 2). Three groups were formed, containing only samples of the respective sites (Fig. 2). The function 1, which contributes explaining 92% of the discrimination between the sites, separates the NF from the agricultural sites. The function 2, which explains 8% of the discrimination between sites, separates the sites at different times under NT (Fig. 2).

The canonical discriminant analysis (CDA) identified the microbiological and biochemical attributes that most contributed to discriminate the sites (Table 2 and Fig. 2).

Table 2: Standardized canonical coefficients (SCC) associated to the discriminating functions 1 and 2, canonical correlation coefficients (r) and parallel discrimination rate (PDR) for each microbial and biochemical soil attributes which discriminates the sites under no-tillage for two years (NT2), no-tillage for 15 years (NT15), or the reference native forest (NF).

	Discriminating function 1			Discriminating function 2		
	SCC	r	PDR	SCC	r	PDR
Dehydrogenase	0.35	0.23	0.08	-0.67	-0.23	0.16
β -glucosidase	1.03	0.05	0.05	0.44	0.14	0.06
Cellulase	-1.24	-0.30	0.38	0.97	0.11	0.11
Acid phosphatase	-0.31	-0.33	0.10	-1.51	0.02	<0.03
Glutaminase	0.41	-0.01	<0.03	0.80	0.46	0.37
MBC	-1.07	-0.33	0.35	-0.49	0.04	<0.03
MBN	-0.17	-0.24	0.04	0.91	0.39	0.36

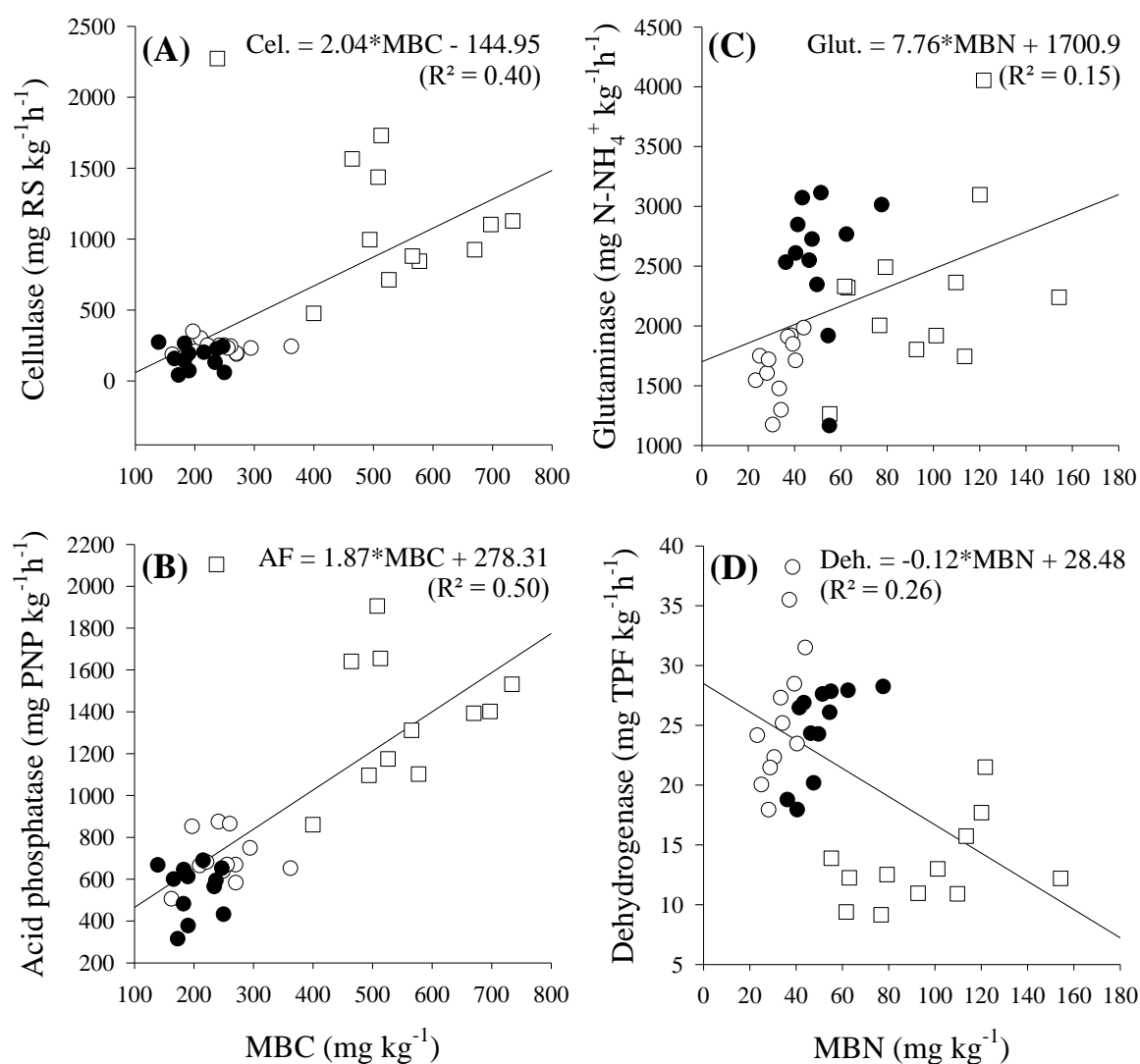
Fig. 2: Relationships between the first and the second canonical discriminant function based on microbiological and biochemical attributes: MBC, MBN, dehydrogenase, β -glucosidase, cellulase, acid phosphatase and glutaminase assessed in agricultural sites under no-tillage for two years (NT2), no-tillage for 15 years (NT15), or the reference native forest (NF). Samples grouped in the same circle do not differ each other by the Wilks' Lambda test ($P > 0.05$).



Based on the criteria established by Baretta *et al.* (2010) for PDR values, acid phosphatase was considered as good discriminator, whereas MBC and cellulase activity were considered very good discriminators along the discriminant function 1, which separated NF from the agricultural sites (Fig. 2). Considering the discriminating function 2, which separated the two areas under NF, dehydrogenase was considered as good, whereas MBN and glutaminase activity as very good discriminators.

The correlation between MBC and cellulase (Fig. 3A) and acid phosphatase (Fig. 3B), which correlated to the discriminant function 1, were positively and significantly correlated.

Fig. 3: Pearson's simple correlation between microbial biomass C (MBC), nitrogen biomass N (MBN) with soil enzyme activities in agricultural sites under no-tillage for two years (\circ), no-tillage for 15 years (\bullet), or the reference native forest (\square). Correlations significant at $P < 0.05$. RS = reducing sugars; PNP = ρ -nitrophenol; TPF = triphenyl formazan.



Considering the attributes that were correlated in the discriminant function 2, the MBN and glutaminase (Fig. 3C) correlated positively, whereas MBN and dehydrogenase (Fig. 3D) correlated inversely.

Five of the nine microbiological and biochemical attributes (BR, MBC, MBN, cellulase and acid phosphatase) showed higher values in the NF site (Table 3). The NT2 and NT15 showed the highest activity of dehydrogenase, and NT15 showed higher activity of glutaminase than NT2 (Table 3).

Table 3: Means (standard deviation) for microbiological and biochemical soil attributes in agricultural sites under no-tillage for two years (NT2), no-tillage for 15 years (NT15), or the reference native forest (NF) in Castro, PR (n=12). TPF = triphenyl formazan, PNP = ρ -nitrophenol, RS = reducing sugars.

Attribute	NF	NT2	NT15
Basal Respiration (mg C-CO ₂ kg ⁻¹ d ⁻¹)	32.5 (10.2)	10.2 (1.8)	17.0 (8.1)
Microbial biomass C (mg kg ⁻¹)	532.2 (135.3)	250.8 (50.9)	201.9 (35.5)
Microbial biomass N (mg kg ⁻¹)	95.7 (29.8)	33.9 (6.5)	50.9 (11.2)
qCO₂ (mg C-CO ₂ g ⁻¹ CBM h ⁻¹)	2.9 (1.9)	1.7 (0.3)	3.6 (1.9)
Dehydrogenase (mg TPF kg ⁻¹ h ⁻¹)	13.3 (3.6)	26.2 (6.2)	24.6 (3.7)
β-glucosidase (mg PNP kg ⁻¹ h ⁻¹)	215.2 (62.2)	221.4 (28.9)	248.2 (29.4)
Cellulase (mg RS kg ⁻¹ h ⁻¹)	1172.7 (498.5)	237.4 (46.1)	160.9 (79.9)
Glutaminase (mg N-NH ₄ ⁺ kg ⁻¹ h ⁻¹)	2303 (715)	1654 (253)	2547 (550)
Acid phosphatase (mg PNP kg ⁻¹ h ⁻¹)	1431.6 (358.1)	696.4 (114.5)	548.6 (122.4)

3.4. DISCUSSION

Conversion of native forest to agriculture causes deep changes in soil properties (NOGUEIRA *et al.*, 2006; ISLAM; WEIL, 2000). Indeed, in our study remarkable differences were observed in water content, labile C, TOC and pH, which have direct effect on the soil microbial community. In the conversion process, inputs such as lime, pesticides, fertilizers, as well as quantitative and qualitative changes in plant composition have certainly resulted in those changes.

Attributes related to microbial metabolism, as respiration and activity of dehydrogenase, are very responsive to changes in soil use (CASIDA *et al.*, 1964; ANDERSON; DOMSH, 1993; ALEF, 1995). These assessments are cheap, easy to proceed

and simple to interpret, as should be a good bioindicator of soil quality (DORAN; SAFLEY, 1997). Basal respiration and activity of dehydrogenase are related to cellular energy obtaining processes, resulting in the release of CO₂ and the generation of an electron flow that can be measured by the activity of dehydrogenase (ARAUJO; MONTEIRO, 2007). Comparing these two variables in the agricultural sites and NF, there is an apparent paradox, because the NF showed twice as much microbial respiration than the agricultural ones, but about 50% of the dehydrogenase activity. This apparent nonsense would lead one to think that basal respiration and dehydrogenase activity are not good indicators of soil quality, but a more careful interpretation could explain this apparent mistake. The microbial community in the native forest soil is commonly genetically and metabolically different from the agricultural soils (PHILLIPS *et al.*, 2011). The more diverse and plain input of organic C in the NF soil results in a more genetically diverse microbial community, in which each species is usually more specialist in using C sources, forming K-strategist communities (INSAM, 1990).

Conversely, the agricultural environment is more simplified and less constant in terms of C inputs. Consequently, the soil microbial community is genetically more simplified, but more generalist in terms of C use, forming R-strategist communities. R-strategist communities are metabolically more active, showing high reproductive rates (INSAN, 1990). The differences in the constitution of the microbial communities with different metabolic properties reflects on the dehydrogenase activity. K-strategist microorganisms are metabolically less active, thus, the apparent contradiction resulting in the higher CO₂ evolution in NF soil despite lower dehydrogenase activity is resulting from higher microbial biomass. Conversely, higher dehydrogenase activity is found in the agricultural soils even with lower BR and microbial biomass. Such behavior is frequently interpreted as methodological failures or inconsistency of the methods, but needs a deeper interpretation taking into account other microbial variables and the assessed environment.

The attributes BR, MBC, MBN and activities of cellulase and acid phosphatase were associated with higher contents of TOC and labile C in the NF soil, since the more abundant presence of organic substrates stimulates the soil microbial biomass and activity. When assessed in a simple correlation, a significant correlation was found between MBC and acid phosphatase ($r = 0.79^*$) and cellulase ($r = 0.86^*$), showing that the higher microbial biomass the higher enzyme activity, which are the main sources of soil enzymes (BALOTA *et al.*, 2004). A regression analysis shows that data from the agricultural sites were located at the basis of the regression, and that the variation of MBC and MBN in the forest soil corresponded in variation in the enzyme activities. This close view shows that the MBC,

MBN and enzyme activities in the agricultural soils varied within a limited range, but the variations in the microbial biomass in the NF resulted in larger variations in the enzyme activities.

The 5-7 fold higher cellulase in the NF soil compared with the agricultural soils can result from the different chemical conditions of the NF soil, especially pH, considerably lower in the NF soil, which is typical of the soils under native vegetation in this region (SANTOS *et al.*, 2016). A correlation analysis (not shown) showed that cellulase was inversely proportional to soil pH ($r = -0.77$, $P < 0.05$), but an opposite relationship was also observed in the PCA factorial plan. The increase of microbial biomass C/N ratio from agricultural to forest sites [NT2 (4.0), NT15 (4.9) and NF (5.6)] suggests increase in the fungal microbial community (CLEVELAND; LIPTZIN, 2007), which are the main sources of cellulase in soil (LYND *et al.*, 2002). Previous work from our group has also shown negative correlation between cellulase activity and soil pH (BINI *et al.*, 2014). Besides lower pH, more recalcitrant residues with higher C/N ratio returning to the NF soil also contribute to stimulate the cellulase activity (BINI *et al.*, 2013).

The NT system keeps the soil cover and reduces the variations in soil temperature and maintains higher moisture. In addition, the different stages of transformations of the soil mulching form a gradient of organic material transformations, mimicking the litter in a soil covered by native vegetation (HUNGRIA *et al.*, 2009). NT is an environmentally sustainable soil management system that have been largely adopted in Brazil, but selection of tools for assessing its quality is still in progress, especially regarding to biological indicators (FRANCHINI *et al.*, 2007; LOPES *et al.*, 2013).

Considering the discriminating capacity of the bioindicators concerning the land use, we propose that C-cycling related bioindicators are more sensitive in discriminating between deeper changes in the land use, e.g., forest to agriculture, whereas N-cycling related bioindicators are more sensitive in discriminating between slighter changes in the land use system, such as time elapsed since the adoption of NT system. As shown in the present study, based on the PDR values of the CDA, MBC and activity of cellulose, they were mostly related to the discrimination between NF from agricultural soils, whereas MBN and the activity of glutaminase were more sensitive in discriminating between different times of adoption of NT system, i.e., NT2 from NT15.

Silva *et al.* (2010) considered the MBC and MBN as sensitive indicators of soil quality in NT systems with different ages (4 or 14 years), and Bini *et al.* (2014) also found N-cycling indicators of soil quality as better discriminators of soil management in sites

under NT with different uses of winter crops, compared with C-cycling biological indicators of soil quality.

Some of the assessed microbiological and biochemical attributes (e.g. BR, MBC, acid phosphatase, cellulase, β -glucosidase) have been tentatively classified in terms of probability of response of plant yield for a given value in the Cerrado soil (LOPES *et al.*, 2013). However, the edaphic-climatic conditions in the region are very different from those of our study, and regional calibration should be achieved. The improvement of soil microbiological and biochemical properties is essential for the yield improvements, increasing the sustainability of the cropping systems in the long-term. Soil organic matter is a key component of the soil fertility that affects several microbiological, physical and chemical attributes. In addition, microbial and biochemical activities must be stimulated as strategies for sustainable soil use and management (GARCÍA-GIL *et al.*, 2000). The pivotal role of such indicators strengthens the importance of selecting key attributes to be used in the interpretation on how the strategies of soil use and management are contributing for the agricultural sustainability of the yield system. However, there is still no single indicator capable of indicating in which direction the strategy of land use is taking the system, and a pool of indicators as presented here allows a more robust view of the system.

3.5. CONCLUSIONS

Different microbiological and biochemical attributes have different sensibility to discriminate the land use. For deeper changes in the land use, such as the conversion of native forest to agriculture, the attributes related to C-cycling (MBC and activity of cellulase) were more discriminating. On the other hand, for detecting slight changes such as the time elapsed since adoption of NT, attributes related to N-cycling (MBN and activity of glutaminase) were more effective for discrimination.

REFERENCES

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

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient from 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 & Biochemistry**, v. 25, p. 393-395, 1993.

ARAÚJO, A. S. F. de; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo (Biological indicators of soil quality). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, July./Sept., 2007.

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**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 300-306, 2004.

BARETTA, D.; BARETTA, C.R.D.M.; CARDOSO, E.J.B.N. Análise multivariada de atributos microbiológicos e químicos do solo em florestas com *Araucaria angustifolia*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, n.s., p.2683-2691, 2008.

BARETTA, D., BROWN, G.G., CARDOSO, E.J.B.N. Potencial da macrofauna e outras variáveis edáficas como indicadores da qualidade do solo em áreas com *Araucaria angustifolia*. **Acta Zoológica Mexicana**, v.2, n.s., p.135-150, 2010.

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

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

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

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

CLEVELAND, C. C.; LIPTZIN, D. C:N:P stoichiometry in soils: is there a “Redfield ratio” for the microbial mass?. **Biogeochemistry**, v. 85, p. 235-252, 2007.

DERPSCH, R.; FRIEDRICH, T. Global overview of conservation agriculture adoption. In: **WORLD CONGRESS ON CONSERVATION AGRICULTURE**, 4., 2009, New Delhi. **Paper presented to ...**, New Delhi: FAO, 2009. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/ca/doc/Derpsch-Friedrich-Global-overview-CA-adoption3.pdf>>. Acesso em: 24 mai. 2017.

DORAN, J.W.; SAFLEY, M. Defining and assessing soil health and sustainable productivity. p. 1-28. In: PANKHURST, C.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R., (Ed.). **Biological indicators of soil health**. Wallingford: CAB International, 1997.

FRANCHINI, J.C., CRISPINO, C.C., SOUZA, R.A., TORRES, E., HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various tillage and crop-rotation systems in southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, v. 92, p. 18–29, 2007.

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

GARCÍA-GIL, J. C.; PLAZA, C.; SOLER-ROVIRA, P.; POLO, A. Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p. 1907–1913, 2000.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R.A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v.42, n. 3, p.288-296, 2009.

INSAM, H. Are the soil microbial biomass and basal respiration governed by the climatic regime? **Soil Biology & Biochemistry**, v.22, n.4, p.525–532, 1990.

ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 79, p. 9-16, 2000.

LOPES, A. A. C.; SOUZA, D. M. G.; CHAER, G. M.; REIS-JÚNIOR, F. B.; GOEDERT, W.; MENDES, I. C. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. **Soil Science Society of American Journal**, v. 77, n. 2, p. 461-472, 2013.

LYND, L. R.; WEIMER, P. J.; ZYL, W. H.; PRETORIUS, I. S. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v. 66, n. 3, p. 506-577, 2002.

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

OBALUM, S. E.; CHIBUIKE, G. U.; PETH, S.; OUYANG, Y. Soil organic matter as sole indicator of soil degradation. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 176, p. 1–19, 2017.

PHILLIPS, R. P.; FINZI, A. C.; BERNHARDT, E. S. Enhanced root exudation induces microbial feedbacks to N cycling in a pine forest under long-term CO₂ fumigation. **Ecology Letters**, v. 14, n. 2, p. 187-194, 2011.

SANTOS, J. A. dos; FONSECA, A. F. da; BARTH, G.; ZARDO FILHO, R. Silage maize quality in different uses of Italian ryegrass and soil management methods after liming. **Archives of Agronomy and Soil Science**, 2017.

SANTOS, J. A. dos; FONSECA, A. F.; ZOCCO, D.; VIEIRA, I. Special liming materials for acidity control of soils with variable charge. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 31, p. 2920-2936, 2016.

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

SILVA, F. R.; ALBUQUERQUE, J. A.; COSTA, A.; FONTOURA, S. M. V.; BAYER, C.; WARMLING, M. I. Physical properties of a Hapludox after three decades under different soil management systems. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, p. 1-14, 2016.

STATSOFT, Inc. **Electronic statistics textbook**. Tulsa, OK: StatSoft, 2013. Disponível em: <<http://www.statsoft.com/textbook>>. Acesso em: 24 mai. 2017.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, J. S.; BOTTOMLEY P. S. (Ed.). **Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties**. Madison: Soil Science Society of America, p. 775–834, 1994.

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

TER BRAAK, C.J.F., SMILAUER, P. **CANOCO reference manual and user's guide to canoco for windows: software for canonical community ordination**. Microcomputer Power. Ithaca, 1988.

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

VIEIRA, R. C. B.; FONTOURA, S. M. V.; BAYER, C.; ERNANI, P. R.; ANGHINONI, I.; MORAES, R. P. Sampling layer for soil fertility evaluation in long-term no-tillage systems. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 40, n.e0150143, p. 1–11, 2016.

4 ARTIGO 2: BIOINDICADORES DE QUALIDADE DE SOLO SOB SISTEMA DE PRODUÇÃO DE FORRAGEM DE ALTA INTENSIDADE NO SUL DO BRASIL

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar atributos microbiológicos e bioquímicos como bioindicadores de qualidade de solo em um sistema de produção de forragem de alta intensidade no sul do Brasil. O solo foi manejado sob quatro sistemas: cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) ou PD com subsolagem bianual (PDS). No inverno, cada área de manejo foi cultivada com azevém (*Lolium multiflorum* Lam.), submetido a três formas de uso: mantido como cobertura do solo, para produção de silagem ou pastejo bovino. No verão, cultivou-se milho (*Zea mays* L.) para produção de silagem. O delineamento experimental foi em blocos casualizados em parcelas subdivididas, sendo o manejo do solo nas parcelas e o uso do azevém nas subparcelas, com quatro repetições. As amostragens de solo foram realizadas, no inverno, após dois e sete anos de instalação do experimento. As avaliações da camada 0-10 cm incluíram: o C lábil, N total, a respiração basal (RB), o C da biomassa microbiana (CBM), o N da biomassa microbiana (NBM), as taxas de amonificação e de nitrificação, e a atividade das enzimas desidrogenase, β -glicosidase, celulase, asparaginase, urease, glutaminase e fosfatase ácida. Os dados foram submetidos à análise de variância, análise de componentes principais (ACP) e análise canônica discriminante (ACD). Na primeira amostragem, foi observado apenas o efeito do manejo do solo. O CC apresentou os menores valores de N total, NBM, RB e atividade da fosfatase ácida. Na segunda amostragem, o uso do azevém passou a ter maior relevância, e sua manutenção como cobertura foi associada à maioria dos atributos avaliados. A ACD revelou o NBM, a taxa de amonificação, o C lábil, as atividades das enzimas desidrogenase, celulase, β -glicosidase, fosfatase ácida e glutaminase como indicadores mais responsivos, permitindo a distinção entre formas de uso do azevém e sistemas de manejos do solo.

Palavras-chave: Microbiologia do solo. Enzimas do solo. Análises multivariadas. Integração lavoura-pecuária. Plantio direto.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess microbiological and biochemical attributes as indicators of soil quality in a system of high intensity forage production in southern Brazil. The experimental design was completely randomized block in split-plot, with four replications. The main plot treatments were the four soil management methods: conventional tillage (CT), minimum tillage (MT), no-tillage (NT) or chiseled no-tillage (CNT). The sub-plots treatments were the three uses of ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) in winter: cover crop, silage or grazing dairy heifers. In the summer, maize (*Zea mays* L.) was cultivated for silage production. The experiment was installed in 2006, and two soil samples (2008 and 2013) were taken, at a 0-10 cm depth to assess: labile C, total N, soil basal respiration (BR), microbial biomass of C (MBC), microbial biomass of N (MBN), ammonification and nitrification rates, activities of dehydrogenase, β -glucosidase, cellulase, asparaginase, urease, glutaminase and

acid phosphatase. The dataset was subjected to one-way ANOVA and means comparisons by Tukey's test ($p \leq 0.05$), principal component analysis (PCA) and discriminant canonical analysis (DCA). In the first sampling, only soil management effect was observed. The CT showed the lowest total N, MBN, BR and acid phosphatase activity. In the second sampling, the use of ryegrass became important, and its use as cover crop was associated to most assessed attributes. The DCA showed MBN, ammonification rate, labile C, activities of dehydrogenase, cellulase, β -glycosidase, acid phosphatase and glutaminase were the most effective in discriminating between the different ryegrass uses and soil managements.

Keywords: Soil microbiology. Soil enzymes. Multivariate analysis. Integrated crop-livestock system. No-tillage.

4.1. INTRODUÇÃO

A qualidade do solo é definida pela sua capacidade em cumprir funções e fornecer serviços essenciais aos ecossistemas (MOREL; CHENU; LORENZ, 2015). Com o intuito de avaliá-la, podem ser empregados indicadores químicos e físicos, porém, os bioindicadores têm sido cada vez mais utilizados, por apresentarem maior sensibilidade. Uma vez que se referem a organismos vivos e seus processos, os indicadores biológicos fornecem uma abordagem que pode ser relacionada a serviços ambientais (JOIMEL *et al.* 2017; OBALUM *et al.*, 2017). Estes indicadores são caracterizados por avaliar os diversos processos biológicos que ocorrem no solo e têm sido diretamente correlacionados à ciclagem do carbono e de nutrientes (BASTIDA *et al.*, 2008; LAUDICINA *et al.*, 2016).

Os diversos sistemas de manejo agrícola afetam o solo, alterando sua capacidade em sustentar serviços essenciais ao ambiente, como a produção primária, dinâmica de nutrientes e depuração de substâncias tóxicas (JOIMEL *et al.* 2017; EL KHALIL *et al.*, 2013; SANTORUFO *et al.*, 2014). A qualidade do solo e sua capacidade produtiva podem ser comprometidas com a intensificação do uso para a produção agrícola (FAO, 2015). Em cultivos convencionais (CC), a remoção de resíduos culturais e o contínuo distúrbio do solo geralmente aceleram a erosão devido à redução da cobertura do solo, do teor de matéria orgânica e da estabilidade de agregados (RAIESI; KABIRI, 2016). A fim de se amenizar ou até mesmo recuperar os danos causados ao solo devido aos diferentes usos da terra, são necessários estudos que quantifiquem os impactos nesses agrossistemas e identifiquem quais os sistemas de manejo mais adequados a serem empregados (LAUDICINA *et al.*, 2016; TRASAR-CEPEDA; LEIROS; GIL-SOTRES, 2008).

Dentre os diversos sistemas de manejo, o plantio direto (PD) é o mais utilizado no Brasil, correspondendo a 70% da área destinada à produção anual de grãos

(VIEIRA *et al.*, 2016). O PD é caracterizado, principalmente, pelo não revolvimento do solo, rotação de culturas e manutenção dos resíduos culturais em sua superfície, formando a cobertura morta, e aumentando a concentração de substâncias orgânicas e inorgânicas nas camadas mais superficiais (ALMEIDA, 1991).

Apesar da eficácia desse manejo conservacionista, alguns produtores têm realizado a escarificação periódica do sistema com o intuito de reduzir a resistência do solo à penetração, e facilitar o crescimento das raízes (ALAM *et al.*, 2017; CAMARA, KLEIN, 2005). Entretanto, o efeito dessa prática pode desestabilizar as formas estáveis de C no solo e levar a perdas na forma de CO₂ para a atmosfera (BAYER; MIELNICZUK; MARTINNETO, 2000; CARVALHO *et al.*, 2010). Outro manejo menos agressivo que o CC, chamado de cultivo mínimo (CM), consiste em reduzir a utilização de equipamentos de discos para revolver o solo, mantendo maior quantidade de resíduos na superfície, com o intuito de diminuir a erosão, aumentar o teor de água e conservar a estrutura do solo, com menor custo em relação ao CC (YALCIN; CAKIR, 2006).

Além do manejo, outras estratégias podem ser utilizadas com o intuito de se melhorar a qualidade do solo, como o estabelecimento de culturas de inverno. Neste aspecto, pode-se destacar a utilização da aveia preta (*Avena strigosa* Shreb) e do azevém (*Lolium spp.*) (BOLLIGER *et al.*, 2006; BINI *et al.*, 2014), especialmente na região subtropical do Brasil.

O objetivo desse trabalho foi avaliar os impactos do manejo do solo e do uso de uma cultura de inverno na qualidade de solo em um sistema de produção de forragem de alta intensidade no sul do Brasil, por meio de atributos microbiológicos e bioquímicos.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Localização, caracterização e histórico da área

O experimento foi instalado no Campo Demonstrativo Experimental (CDE) da Fundação ABC, em Castro, Paraná, sul do Brasil (24°47'53"S, 49°57'41"W, 997 m de altitude e relevo plano de 0,01 m m⁻¹ de declividade). O clima local é classificado como Cfb (Köppen), subtropical mesotérmico, sem estação seca definida, verões amenos (mês mais quente inferior a 22° C), com temperatura média de 17,4°C e precipitação média anual de 1534 mm (SMA, 2017; SANTOS *et al.*, 2017).

Antes da instalação do experimento, a área foi manejada sob PD, por mais de 10 anos, com a rotação de culturas: soja (*Glycine max* L. Merr.)/milho (*Zea mays* L.) na

primavera-verão, e trigo (*Triticum aestivum* L.)/aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) no outono-inverno. O experimento foi iniciado em março de 2006, utilizando-se a sucessão: milho na primavera-verão, para produção de silagem, e azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) no outono-inverno, com diferentes usos. Essa sucessão foi escolhida pela importância regional dessas culturas como as principais fontes de alimento à bovinocultura de leite.

O solo é classificado como LATOSSOLO Bruno argiloso (EMBRAPA, 2006), e em março de 2008 apresentava as seguintes características químicas e físicas da camada 0-20 cm (PAVAN *et al.*, 1992; EMBRAPA, 1997): pH (CaCl₂) 4,5; Al, Ca, Mg e capacidade de troca de cátions de 6; 29; 11 e 151 mmol_c dm⁻³, respectivamente; 29% de saturação por bases; 463,5 g kg⁻¹ de argila, 370,5 g kg⁻¹ de silte e 166,0 g kg⁻¹ de areia.

4.2.2 Delineamento, tratamentos e condução do experimento

O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados em parcelas subdivididas, com quatro repetições. Nas parcelas (10 x 30 m) foram empregados quatro sistemas de manejo do solo: cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e PD com subsolagem bianual (PDS). Nas subparcelas (10 × 10 m) foram avaliadas três formas de uso do azevém no inverno: mantido como cobertura do solo, silagem pré-secada ou pastejo animal (integração lavoura-pecuária). As subparcelas foram projetadas para facilitar o movimento das máquinas, desse modo, apresentaram área útil de 64 m².

No CC e CM, o solo foi manejado anualmente no mês de março, utilizando o arado de discos e a grade niveladora nas profundidades (médias) de 20 cm e 10 cm, respectivamente, antes da instalação da cultura do azevém. No PDS, o solo foi escarificado bianualmente (2009, 2011 e 2013), na profundidade média de 30 cm.

Para o controle da acidez do solo, foram aplicados 8,3 Mg ha⁻¹ de calcário dolomítico (150 g kg⁻¹ de CaO + 250 g kg⁻¹ de MgO e 74% de poder relativo de neutralização total) em março de 2009, visando elevar a saturação por bases para 70%, que é considerada adequada para produção do milho (CAIRES *et al.*, 2005). Maiores detalhes sobre a condução do experimento são descritos em Santos *et al.* (2017).

A semeadura do azevém anual, cultivar FABC 01, ocorreu na segunda quinzena de abril de 2008 a 2013. A profundidade de semeadura foi de, aproximadamente, 3 cm, espaçamento entre linhas de 17 cm e 60 kg ha⁻¹ de sementes. As sementes foram tratadas com *Tiametoxam* na dose de 42 g ha⁻¹ de ingrediente ativo.

Os cortes ou pastejos do azevém iniciaram quando as plantas atingiram aproximadamente 30 cm de altura a intervalos de 20 dias. Os cortes foram realizados com ceifadora mecanizada a 10 cm de altura. O pastejo rotacionado foi realizado por novilhas da raça Holandesa que tinham aproximadamente 400 kg, manejadas com cerca elétrica, mantendo-se taxa de lotação de 3 animais ha⁻¹.

A adubação de cobertura do azevém foi realizada 20 dias após a emergência, e a cada pastejo ou corte do azevém para silagem pré-secada (Tabela 1). Após o último corte/pastejo, o azevém foi mantido 20 dias em recuperação, e em seguida, manejado com o herbicida *glyphosate*, na dose de 4 L ha⁻¹ (1920 g ha⁻¹ de ingrediente ativo). Cerca de 30 dias após o manejo da fitomassa de azevém, realizou-se a semeadura direta do milho para silagem, em todas as subparcelas, na densidade de 5 sementes m⁻¹ e espaçamento entre linhas de 0,8 m. Na cultura do milho, a adubação de base foi acrescida de zinco (Zn), e a adubação de cobertura foi aplicada 30 dias após a emergência (Tabela 1). O milho para silagem foi colhido no estágio R3 (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 1993), quando apresentava cerca de 300 g kg⁻¹ de matéria seca (VILELA *et al.*, 2008).

Tabela 1 - Aporte de nutrientes fornecidos pelas adubações realizadas nas culturas de azevém anual e de milho.

Culturas	Aporte de nutrientes (kg ha ⁻¹)		
	N	P ¹	K ¹
Adubação de base			
Azevém anual	20,0	40,0	40,0
Milho	45,0	90,0	-
Adubação de cobertura			
Azevém anual ²	54,0	-	36,0
Milho	125,0	-	125,0
Somatório	244,0	130,0	201,0

¹P e K em equivalente aos óxidos P₂O₅ e K₂O, respectivamente; ²Somente quando o azevém anual foi destinado ao pastejo animal ou silagem pré-secada; N aplicado na forma de ureia; P aplicado na forma de superfosfato simples e triplo; K aplicado na forma de cloreto de potássio.

4.2.3 Amostragens e análises de solo

As amostragens de solo foram realizadas em setembro de 2008 e em agosto de 2013. As amostras de solo foram obtidas da camada 0-10 cm, utilizando trados tipo caneca, coletando-se 12 subamostras para formar uma amostra composta por subparcela. O solo foi homogeneizado, peneirado (2 mm) e armazenado a 4 °C para realização das análises.

As amostras de solo foram ajustadas a 60% da capacidade de campo para avaliação da respiração basal (RB) (ALEF, 1995), carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) pelo método da fumigação-extração (VANCE *et al.*, 1987) com modificações (HUNGRIA *et al.*, 2009), empregando-se coeficientes de extração $K_C = 0,33$ e $K_N = 0,54$ (VANCE *et al.*, 1987; BROOKES *et al.*, 1985; FRANCHINI *et al.*, 2007). O quociente metabólico (qCO_2) foi calculado pela razão da RB e CBM (ANDERSON; DOMSCH, 1993). Também foram avaliadas as taxas de amonificação e nitrificação (SCHUSTER; SCHRODER, 1990; KEENEY; NELSON, 1982).

Entre os atributos bioquímicos, avaliaram-se as atividades das enzimas desidrogenase (CASIDA *et al.*, 1964), celulase (SCHINNER; VON MERSI, 1990) e fosfatase ácida (TABATABAI; BREMNER, 1969), em ambas as amostragens; asparaginase (FRANKENBERGER; TABATABAI, 1991) e urease (TABATABAI; BREMNER, 1972) apenas na primeira amostragem; β -glicosidase (TABATABAI, 1994) e glutaminase (FRANKENBERGER; TABATABAI, 1991) apenas na segunda amostragem. Os resultados foram expressos com base em massa de solo seco a 105 °C.

Para a determinação dos atributos químicos (pH, P disponível, C e N totais), as amostras de solo foram secas em estufa a 40 °C com circulação forçada de ar, moídas e peneiradas (2 mm). O C lábil correspondeu ao C solúvel determinado nas amostras não fumigadas na avaliação do CBM (PABST; KÜHNEL; KUZYAKOV, 2013). O carbono orgânico total foi oxidado com $K_2Cr_2O_7$ na presença de ácido sulfúrico (YEOMANS; BREMNER, 1988); para o N total as amostras foram digeridas com ácido sulfúrico e catalisadores, seguido de destilação a vapor e titulação (BREMNER; MULVANEY, 1982); P disponível foi determinado em extrato Mehlich-1 (MURPHY; RILEY, 1962). O pH do solo foi medido em potenciômetro em uma solução 1:2,5 solo: 0,01 mol L⁻¹ CaCl₂ após agitação por 15 min a 220 rpm e sedimentação.

4.2.4 Análises estatísticas

Em cada amostragem, os dados foram submetidos à análise de variância de dois fatores e comparação de médias pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$ no programa R, versão 3.3.3.

A análise de componentes principais (ACP) foi realizada em ambas as amostragens, para verificar as relações entre os tratamentos e os atributos avaliados, assim como entre as variáveis, empregando-se o software Canoco, versão 4.5.

A análise canônica discriminante (ACD) foi realizada para determinar quais atributos mais contribuíram para discriminar os tratamentos e verificar se há diferença estatística entre eles ($p < 0,05$), empregando-se o software Statistica, versão 10. Os valores do coeficiente canônico padronizado (CCP) representam a contribuição de cada atributo para a definição da função discriminante, e o coeficiente de correlação canônico (r) mostra a correlação de cada atributo com a função discriminante. No entanto, costuma-se adotar a taxa de discriminação paralela (TDP) que leva em consideração os pesos dos dois índices anteriores, pois é um produto dos mesmos ($TDP = CCP \times r$) (BARETTA *et al.*, 2008). Os valores de TDP inferiores a 0,03 têm baixa capacidade discriminante; entre 0,04 e 0,09 são de média capacidade discriminante; 0,10-0,20 são bons discriminantes; e 0,21-0,41 são considerados muito bons discriminantes (BARETTA *et al.*, 2010).

4.3 RESULTADOS

Na primeira amostragem, o C orgânico, C lábil, N total e a relação C:N do solo foram influenciados significativamente apenas pelo manejo do solo (Apêndice 1). O solo sob plantio direto apresentou menos C lábil que o cultivo mínimo e plantio direto com subsolagem. As amostras provenientes do cultivo convencional apresentaram menor teor de C orgânico que o solo sob plantio direto, menos N total em relação aos demais manejos agrícolas, e maior relação C:N que o solo sob plantio direto. O P disponível e o pH não diferiram entre os tratamentos (Apêndice 1).

A respiração basal foi significativamente influenciada pelos efeitos isolados do manejo do solo e uso do azevém no inverno (Apêndice 2). No entanto, o N da biomassa microbiana e o qCO_2 foram influenciados apenas pelo efeito do manejo. O cultivo convencional apresentou menor respiração basal e N da biomassa microbiana em relação aos demais manejos de solo. O solo com azevém destinado a pastejo animal apresentou menor desprendimento de CO_2 que o solo com azevém mantido em cobertura. O cultivo mínimo apresentou maior qCO_2 que os dois sistemas de plantio direto empregados. Não houve efeito dos tratamentos sobre o C da biomassa microbiana (Apêndice 2).

Em relação às atividades enzimáticas, a celulase e a fosfatase ácida foram influenciadas apenas pelo manejo do solo (Apêndice 3). O cultivo convencional apresentou menor atividade da celulase que o cultivo mínimo e plantio direto com subsolagem, e menor atividade da fosfatase ácida que os demais manejos do solo. A atividade da desidrogenase, asparaginase e urease não diferiram entre os tratamentos (Apêndice 3).

A taxa de nitrificação foi influenciada apenas pelo manejo, mas não houve efeito na taxa de amonificação (Apêndice 4). O cultivo convencional apresentou menor taxa de nitrificação que o plantio direto.

Na segunda amostragem, o C lábil foi influenciado apenas pelo manejo do solo, o P disponível foi influenciado pelo efeito isolado do manejo do solo e uso do azevém, e o pH foi influenciado pela interação entre os dois fatores (Apêndice 5). Os teores de C lábil nos solos sob plantio direto foram maiores que sob cultivo mínimo. Já o teor de P no solo sob plantio direto foi menor que no solo sob cultivo convencional. O solo com azevém mantido em cobertura apresentou maior teor de P que o solo sob pastejo animal. De forma geral, o solo em que o azevém foi mantido como cobertura apresentou maior pH que as demais formas de uso dessa cultura dentro de cada manejo empregado. Nesse caso, maior pH foi observado no solo sob plantio direto com subsolagem comparado ao cultivo convencional. O C orgânico, o N total e a relação C:N do solo não diferiram entre os tratamentos (Apêndice 5).

O C da biomassa microbiana e o qCO_2 foram influenciados apenas pelo efeito isolado do uso do azevém. No entanto, o N da biomassa microbiana e a respiração basal foram influenciados pela interação entre os dois fatores (Apêndice 6). Com relação ao uso do azevém, o solo destinado à pastagem apresentou mais C da biomassa microbiana que aquele destinado à silagem, e menor qCO_2 que os demais usos dessa cultura de inverno. O N da biomassa microbiana foi maior no solo com azevém mantido como cobertura no cultivo convencional, de forma semelhante ao observado no plantio direto com subsolagem. O azevém mantido na cobertura estimulou a respiração basal no cultivo mínimo e plantio direto com subsolagem (Apêndice 6).

A atividade das enzimas desidrogenase, celulase e fosfatase ácida foram influenciadas pelos efeitos isolados do manejo do solo e do uso do azevém. A β -glicosidase foi influenciada apenas pelo efeito do manejo, e a glutaminase foi influenciada pela interação entre os dois fatores (Apêndice 7). A atividade da desidrogenase foi maior nos solos sob cultivo mínimo e plantio direto com subsolagem, assim como no solo mantido com azevém como cobertura. Já as atividades da celulase, fosfatase ácida e β -glicosidase foram maiores no solo sob cultivo mínimo. Quanto às formas de uso do azevém, a manutenção em cobertura estimulou a atividade da celulase, porém diminuiu a atividade da fosfatase ácida. A atividade da glutaminase foi maior no solo sob plantio direto com subsolagem e azevém mantido como cobertura (Apêndice 7).

A taxa de nitrificação foi influenciada pelo efeito isolado do manejo do solo e uso do azevém, e a taxa de amonificação foi influenciada pela interação entre esses dois

fatores (Apêndice 8). A maior taxa de nitrificação ocorreu no cultivo convencional, assim como no solo com azevém mantido em cobertura. A taxa de amonificação foi, em geral, maior no solo em que o azevém foi destinado ao pastejo animal. A taxa de amonificação foi negativa apenas no plantio direto com subsolagem e uso do azevém para silagem.

A análise de componentes principais (ACP) da primeira amostragem (Figura 1A) explica 30% da variação no eixo 1, separando as amostras do cultivo convencional dos demais manejos. Essas amostras foram inversamente relacionadas aos atributos avaliados, exceto a relação C:N do solo, empregada como variável explicativa. O eixo 2, que explica 22% da variação, separou o cultivo mínimo e o convencional dos PD e PDS. O cultivo mínimo foi diretamente relacionado às atividades de asparaginase, urease e desidrogenase, $q\text{CO}_2$ e respiração basal. Cultivo mínimo e cultivo convencional foram associados ao C lábil. Já os tratamentos sob plantio direto foram relacionados ao carbono e ao nitrogênio da biomassa microbiana, especialmente no azevém mantido como cobertura ou pastejado. Já o plantio direto com azevém usado para silagem foi mais relacionado com as atividades de celulase e fosfatase ácida, e taxas de amonificação e nitrificação, que por sua vez tiveram relação com C e N totais e P disponível (Figura 1A).

Na segunda amostragem, o eixo 1 da ACP explicou 33 % da variação, enquanto o eixo 2 apresentou 19% (Figura 1B). Nesse caso, houve clara distinção entre as formas de uso do azevém no inverno, em que o uso do azevém para pastejo se posicionou de forma oposta ao azevém mantido em cobertura, enquanto que seu uso para silagem se posicionou de maneira intermediária no plano fatorial. Quanto ao manejo do solo, apenas o cultivo mínimo apresentou clara distinção dos demais sistemas. Nessa amostragem, as relações com as variáveis se tornaram mais específicas, dependendo do manejo e do uso do azevém no inverno. De maneira geral, a taxa de amonificação foi associada ao uso do azevém como pastejo. O cultivo mínimo sob pastejo teve maior relação com o carbono da biomassa microbiana e com a atividade da fosfatase ácida. Já o cultivo mínimo com manutenção do azevém em cobertura foi associado ao nitrogênio da biomassa microbiana e atividades de celulase e β -glicosidase, que por sua vez foram associadas ao N total. O cultivo convencional com azevém mantido em cobertura foi associado à respiração basal e atividades da glutaminase e desidrogenase (Figura 1B).

Na ACD da primeira amostragem não foi possível identificar atributos capazes de discriminar os sistemas de manejo e as formas de uso do azevém no inverno (dados não apresentados). No entanto, a ACD da segunda amostragem indicou efeito discriminante significativo (Wilks' Lambda; $p \leq 0,05$) para N da biomassa microbiana,

atividade das enzimas desidrogenase, celulase, β -glicosidase, fosfatase ácida e glutaminase, taxa de amonificação e C lábil (Tabela 2). A FD1 explicou 40% enquanto a FD2 explicou 30% da capacidade discriminante. Na FD1, os bioindicadores com maior capacidade discriminante, em ordem de importância, foram NBM, C lábil, atividade da celulase, β -glicosidase e glutaminase. Na FD2, os melhores discriminantes foram a atividade da glutaminase e da fosfatase ácida, a taxa de amonificação e a atividade da desidrogenase. É possível observar distintas faixas de separação quanto ao uso do azevém no inverno, em que o uso como cobertura assume posição oposta ao pastejo, enquanto que o uso como silagem ocupa posição intermediária (Figura 2). Quanto aos sistemas de manejo, as duas formas de plantio direto (PD e PDS) contrastam em relação aos demais. A ACD demonstrou que apenas o CC-silagem não diferiu do CM-silagem, e o PD-pastejo não diferiu do PDS-pastejo pelo teste de Wilks' Lambda, $p > 0,05$ (Figura 2).

Figura 1 - Análise de componentes principais (ACP) baseada em variáveis microbiológicas, bioquímicas e variáveis explicativas (C lábil, C e N totais, P disponível, pH e relação C:N do solo) avaliadas em solo sob quatro sistemas de manejo – cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e PD com subsolagem bianual (PDS), e três formas de uso do azevém no inverno – cobertura do solo, silagem pré-secada e pastejo animal. Cada símbolo representa o baricentro dos tratamentos (n=4). *RB* = respiração basal, *CBM* = carbono da biomassa microbiana, *NBM* = nitrogênio da biomassa microbiana, *qCO₂* = quociente metabólico, *TA* = taxa de amonificação, *TN* = taxa de nitrificação. (A) primeira amostragem (2008), (B) segunda amostragem (2013).

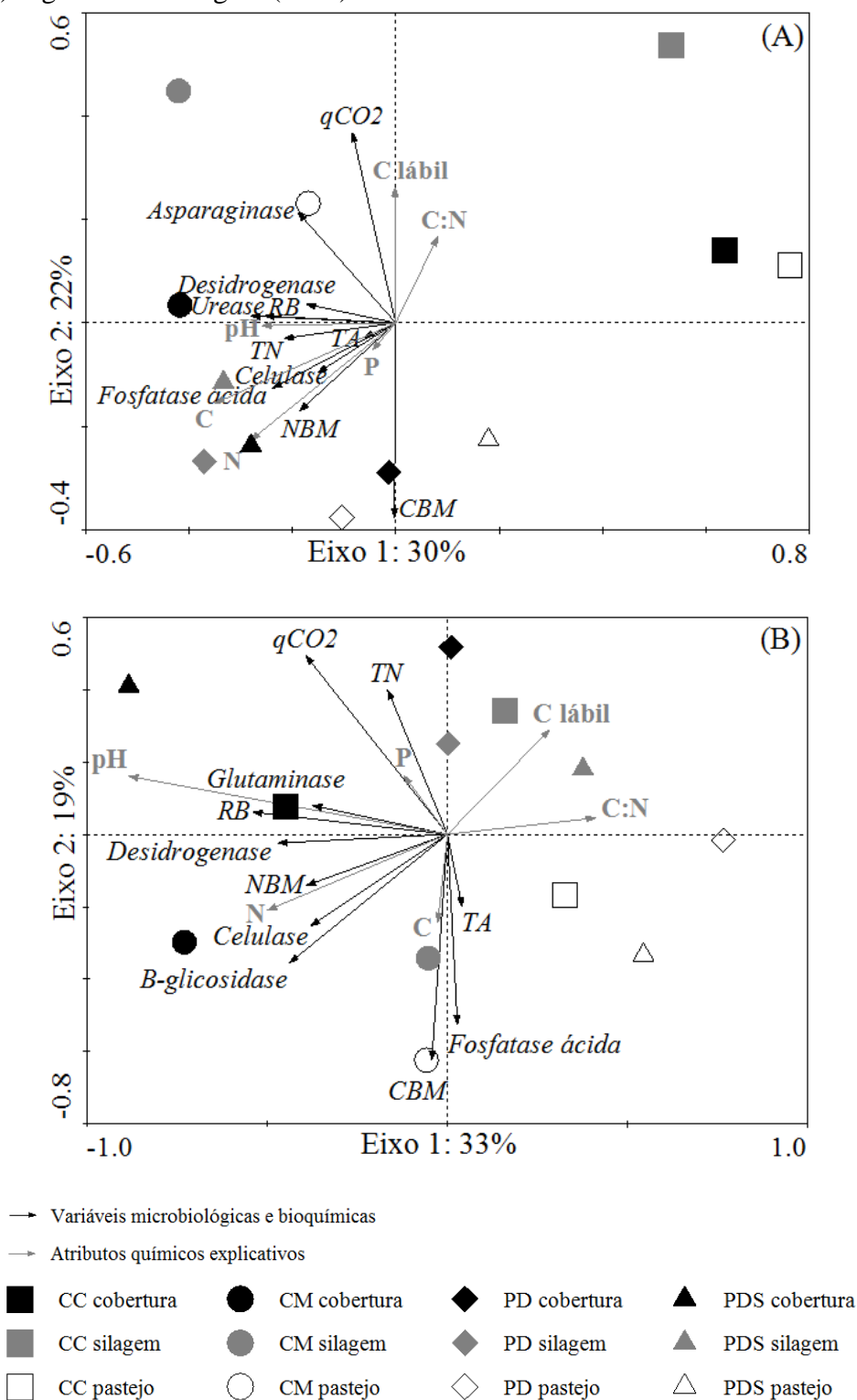
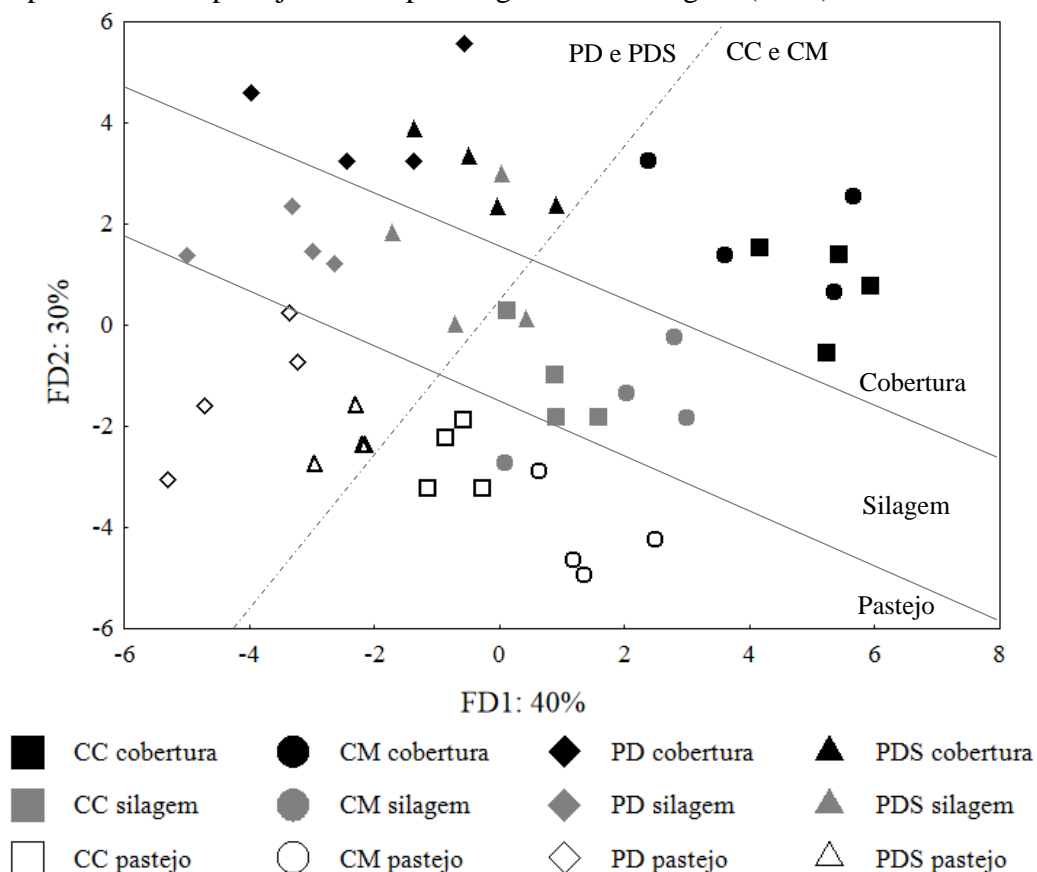


Tabela 2 - Coeficientes canônicos padronizados (CCP) das funções discriminantes 1 e 2, r (coeficiente de correlação canônico) e TDP (taxa de discriminação paralela) dos atributos microbiológicos, bioquímicos e químicos obtidos em solo sob quatro sistemas de manejo – cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) ou PD com subsolagem bianual (PDS), e três formas de uso do azevém no inverno – cobertura do solo, silagem pré-secada ou pastejo animal para segunda amostragem (2013).

Atributo	Função Discriminante 1			Função Discriminante 2		
	CCP	r	TDP	CCP	r	TDP
NBM	0,57	0,43	0,25	-0,04	0,14	<0,03
Desidrogenase	0,32	0,20	0,07	0,46	0,31	0,15
Celulase	0,66	0,26	0,17	0,47	0,04	<0,03
β -glicosidase	0,74	0,23	0,17	-0,74	-0,07	0,05
Fosfatase ácida	-0,61	0,01	<0,03	-0,82	-0,33	0,27
Glutaminase	-1,00	-0,10	0,10	0,91	0,37	0,33
Taxa de amonificação	-0,21	-0,18	0,04	-0,61	-0,29	0,18
C lábil	-0,82	-0,26	0,21	0,16	0,05	<0,03

Figura 2 - Análise discriminante baseada nos coeficientes canônicos padronizados dos atributos microbiológicos, bioquímicos e químicos obtidos em solo sob quatro sistemas de manejo – cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) ou PD com subsolagem bianual (PDS), e três formas de uso do azevém no inverno – cobertura do solo, silagem pré-secada ou pastejo animal para segunda amostragem (2013).



4.4 DISCUSSÃO

Em sistemas agrícolas, geralmente, o manejo do solo tem maior influência que as culturas nos atributos microbiológicos e bioquímicos do solo (YAO; BOWMAN; SHI, 2006; SOUZA *et al.* 2013). Na primeira amostragem (2008), dois anos após a instalação do experimento, foram observados apenas efeitos do manejo do solo, com exceção da respiração basal, que também foi influenciada pela forma de uso do azevém no inverno. Na segunda amostragem (2013), sete anos após a instalação do experimento, verificaram-se interações entre manejo do solo e uso do azevém. Assim, o uso do azevém passou a ter maior influência no solo com o tempo, tornando as relações mais complexas, à medida que as respostas passaram a depender tanto do manejo do solo, quanto das formas de uso do azevém. Essas constatações foram corroboradas pela ACP e pela ACD, que por sua vez apresentaram variáveis com capacidade discriminante apenas na segunda amostragem.

A ACP evidenciou que, na primeira amostragem, no segundo ano do experimento, o efeito do manejo do solo foi mais importante para a separação dos tratamentos no plano fatorial. O cultivo convencional apresentou maior distância dos demais manejos, por ser o mais agressivo ao solo, causando alterações mais intensas. O fato de o cultivo convencional estar diretamente relacionado à relação C:N do solo indica menor disponibilização de N para as culturas (IBEWIRO *et al.*, 2000). Por sua vez, todos os demais atributos foram favorecidos pelo plantio direto e pelo cultivo mínimo, em oposição ao cultivo convencional. Diferenças contrastantes quanto a bioindicadores de qualidade do solo entre o manejo conservacionista, como o sistema plantio direto, e o cultivo convencional podem ocorrer tanto em curto (FRANCHINI *et al.*, 2007; BINI *et al.*, 2014) quanto em longo prazo (HUNGRIA *et al.*, 2009; BABUJIA *et al.*, 2010). Entretanto, ao se avaliar as diferenças entre as variáveis uma a uma pela análise de variância, embora significativas, elas são pouco evidentes em relação aos manejos, além de serem de difícil interpretação no caso de interações. Essa constatação reforça a importância da análise multivariada para interpretar os efeitos do manejo sobre bioindicadores de qualidade do solo, que em muitos casos não são evidentes com a análise isolada de cada variável pela estatística univariada.

Após sete anos de condução do experimento e cinco após a primeira amostragem, observou-se que as formas de uso do azevém passaram a ser mais relevantes para separar os efeitos sobre as propriedades microbiológicas e bioquímicas do solo. A ACP separou as formas de uso do azevém, sendo que a sua manutenção na superfície do solo foi positivamente relacionada à maioria dos bioindicadores, sugerindo favorecimento das

condições microbiológicas do solo em relação às demais formas de uso da cobertura de inverno. Maior NBM, respiração basal e atividade das enzimas celulase, desidrogenase, β -glicosidase e glutaminase no solo com azevém mantido em cobertura são atribuídos à proteção do solo promovida pelas plantas vivas e seus resíduos deixados em superfície, bem como ao aporte de C ao solo pela exsudação radicular e pelos resíduos. Dentre os efeitos, destacam-se a proteção contra os impactos das chuvas na superfície do solo, diminuição das oscilações de temperatura, redução das perdas de água por evaporação, redução da erosão, e são importante fonte de carbono orgânico para a comunidade microbiana do solo. Nessa condição, notou-se, ainda, maior relação com o NBM, indicando que parte do N fica imobilizada nas células microbianas, o que reduz suas perdas no sistema (BALOTA *et al.*, 2003; KASCHUK; ALBERTON; HUNGRIA, 2010).

Outro fator a ser considerado é a maior relação da atividade da fosfatase ácida com os solos sob plantio direto e o cultivo mínimo na primeira amostragem. As fosfatases atuam na mineralização das formas orgânicas de P e são produzidas por plantas, animais e microrganismos (NAHAS, 2015). No entanto, na segunda amostragem, a atividade da fosfatase ácida foi associada ao cultivo mínimo, especialmente com azevém sob pastejo ou usado para silagem, que por sua vez, se relacionou inversamente à disponibilidade de P. Nesse caso, a maior atividade da fosfatase ácida é, em parte, resposta ao menor teor de P, pela exportação via retirada da parte aérea.

Considerando-se que a maioria da comunidade microbiana do solo é heterotrófica, o resíduo orgânico mantido na superfície do solo torna-se fator estimulante à atividade microbiana (DEFOREST *et al.*, 2004), já que nas outras formas de uso a biomassa das plantas é removida do ambiente de produção. A exceção foi a taxa de amonificação, que apresentou maior relação com o uso do azevém para pastejo animal. Esse resultado provavelmente se deve ao aporte de formas orgânicas de N via decomposição dos resíduos vegetais e excretas dos animais, na forma de ureia, que ao serem mineralizados ou hidrolisados, respectivamente, liberam amônia. Outro aspecto relevante observado na taxa amonificação foi a imobilização do N pela biomassa microbiana no PDS-silagem, em relação ao PD-silagem. Como o azevém tem relação C:N de 32:1 (ZIECH *et al.*, 2015), mas, no caso da silagem, a biomassa é removida do sistema, sugere-se uma grande exportação de N, o que diminui seu estoque no solo e, em alguns casos, pode até levar à imobilização (BOLLIGER *et al.*, 2006), como ocorreu no PDS. Por outro lado, no solo coberto e no pastejado há maior aporte de resíduos ao solo, o que resulta em maiores teores de formas orgânicas de N passíveis de serem mineralizadas (ALVES *et al.*, 2011). Essas alterações não foram

observadas para os teores de C e N totais, o que reforça a importância de se incluir nas análises indicadores mais sensíveis que sejam facilmente alterados pelo uso e manejo do solo (MASTO *et al.*, 2009) e possam ser usados de forma mais rápida para inferir sobre a sustentabilidade de um determinado sistema de produção.

Na primeira amostragem, maiores teores de C orgânico total e N total no plantio direto em relação ao cultivo convencional são atribuíveis à manutenção dos resíduos culturais na superfície no cultivo de inverno e preservação da estrutura do solo pelo não revolvimento, já que há pouca deposição de resíduos vegetais pela parte aérea das plantas de milho ao final do ciclo de verão, pois são retiradas para silagem. Manejos conservacionistas, como o plantio direto, favorecem a atividade microbiana e bioquímica do solo pela não perturbação física e pelo favorecimento à manutenção de C orgânico no solo. A rizodeposição, manutenção da umidade do solo e menores variações de temperatura também auxiliam na manutenção da matéria orgânica do solo, contribuindo para sustentabilidade do sistema de manejo em longo prazo (BALOTA *et al.*, 2003; NOGUEIRA *et al.*, 2006; CARDOSO *et al.*, 2013; BINI *et al.*, 2014).

Babujia *et al.* (2010) observaram maiores teores de C orgânico total e N total em solos sob plantio direto em relação ao cultivo convencional, manejados por 20 anos. Embora não comparados estatisticamente, houve um ligeiro acréscimo de C total do solo da primeira para a segunda amostragem e um decréscimo do N total, sem efeito do manejo do solo e do uso do azevém ao final de sete anos. Essa redução do N pode ser atribuível à constante sucessão com gramíneas, além do fato de que o milho cultivado no verão é usado para silagem, aumentando ainda mais a exportação do N do solo (SANTOS *et al.*, 2017). O constante aporte de C ao solo pelas raízes das gramíneas, tanto no verão quanto no inverno, pode ter contribuído para o aumento do C do solo após cinco anos. Por sua vez, houve queda nos teores de C lábil no cultivo mínimo e convencional. Essa fração do carbono orgânico total pode ser facilmente mineralizada pelos microrganismos do solo, sobretudo se estimulados pela movimentação do solo, e constitui importante fonte de C e energia aos mesmos, podendo refletir alterações na qualidade do solo em resposta ao manejo em curto prazo, antes que alterações no C orgânico total sejam detectadas (HAYNES, 2005; SHAO; YANG; WU, 2015).

Em manejos mais impactantes, como no cultivo convencional, a inversão da camada superficial do solo promovida pelo arado afeta a dinâmica da matéria orgânica, acelerando o processo de oxidação e reduzindo os estoques de C orgânico total no solo e, conseqüentemente, a atividade microbiológica (CARDOSO *et al.*, 2013). Na primeira

amostragem, no cultivo convencional, houve menor respiração basal, menor taxa de nitrificação e menor atividade das enzimas celulase e fosfatase ácida, o que também coincidiu com teores de C orgânico total ligeiramente menores. Por outro lado, embora não tenham sido verificadas alterações no C orgânico total na segunda amostragem em razão do manejo do solo, o C lábil foi maior no plantio direto em relação ao cultivo convencional e o mínimo. Isso reforça a importância de se avaliar atributos mais sensíveis e que tenham relação com processos do solo como a ciclagem do carbono e de nutrientes (CARDOSO *et al.*, 2013; FRANCHINI *et al.* 2007; SILVA *et al.* 2010).

O quociente metabólico (qCO_2), índice que representa o estado metabólico dos microrganismos do solo (ANDERSON; DOMSCH, 1993), apresentou, na primeira amostragem, menores valores nos tratamentos sob plantio direto, em contraste ao cultivo mínimo. Esse índice sugere que a comunidade microbiana no solo sob cultivo mínimo realizava mais oxidação de C orgânico para manter a mesma unidade de biomassa microbiana (ANDERSON; DOMSCH, 1993), provavelmente induzida por uma condição mais desfavorável resultante do revolvimento do solo.

A movimentação do solo com implementos agrícolas pode influenciar positivamente suas propriedades físicas por períodos variáveis (CAMARA; KLEIN, 2005), porém, esses efeitos em geral são negativos para os processos microbiológicos (BINI *et al.*, 2014; KASCHUK; ALBERTON; HUNGRIA, 2010; SILVA *et al.*, 2010), e os solos acabam retornando ao estado de degradação física inicial. Assim, observou-se menor respiração no solo manejado sob cultivo convencional na primeira amostragem, efeito que passou a ser mais influenciado pelo uso do azevém no inverno na segunda amostragem, resultando em maior respiração quando o azevém foi mantido como cobertura. Já a desidrogenase não foi influenciada na primeira amostragem, enquanto na segunda foi maior no solo sob azevém mantido em cobertura e diminuiu no cultivo convencional. Apesar de a respiração basal e a atividade da desidrogenase estarem relacionadas aos processos de obtenção de energia pela célula, seus resultados nem sempre são correspondentes e podem variar diferencialmente em razão do uso do solo e das culturas, do aporte de resíduos e, por isso, suas interpretações precisam ser feitas com cautela (BINI *et al.*, 2014). No presente trabalho, essas duas variáveis estiveram relacionadas uma à outra, conforme indica a ACP, mas apenas a desidrogenase apresentou capacidade discriminante na ACD, o que justifica seu uso como indicador por ser uma análise rápida e de fácil processamento (DORAN; SAFLEY, 1997).

A ACD permitiu validar um conjunto mínimo de atributos discriminantes apenas com os dados da segunda amostragem, provavelmente pelo aumento da complexidade

do ambiente de produção com o tempo, quando o efeito do uso azevém no inverno passou a ser mais expressivo. De acordo com a classificação dos valores de TDP proposta por Baretta *et al.* (2010), as atividades de glutaminase, celulase e β -glicosidase são considerados bons discriminantes, enquanto que o NBM e o C lábil são muito bons discriminantes na função discriminante 1. Considerando a função discriminante 2, a desidrogenase e a taxa de amonificação foram classificadas como bons discriminantes, enquanto a glutaminase e a fosfatase ácida foram muito bons discriminantes. Desse modo, a glutaminase, que é indicativa do potencial de mineralização de formas orgânicas de N foi importante na determinação de ambas funções discriminantes.

Silva *et al.* (2010) avaliaram vários experimentos sob plantio direto e cultivo convencional, manejados a curto e longo prazo, e também consideraram o NBM um indicador de qualidade de solo sensível aos sistemas de manejo. Bini *et al.* (2014) demonstraram que os bioindicadores relacionados ao ciclo do N, principalmente a atividade da glutaminase, foram mais sensíveis que os relacionados ao ciclo do C para discriminar o plantio direto do cultivo convencional, indicando que o manejo do solo promoveu mudanças mais evidentes no ciclo do N, o que enfatiza ainda mais a importância de atributos relativos ao ciclo do N como indicadores.

No presente estudo, um conjunto de bioindicadores relacionados aos ciclos do C, do N e do P foi identificado como capazes de discriminar os diferentes manejos de solo e formas de uso do azevém no inverno, provavelmente devido ao aumento da complexidade com o passar do tempo de adoção dos sistemas de manejo do solo e uso da cultura de inverno. Ressalta-se ainda, que na comparação dois a dois entre as 12 combinações de manejo do solo e uso de azevém no inverno, apenas duas comparações (CC-silagem \times CM-silagem e PD-pastejo \times PDS-pastejo) não diferiram entre si pelo teste Wilks' Lambda. Assim, o uso da estatística multivariada se mostrou uma ferramenta útil para selecionar atributos capazes de avaliar a qualidade do solo (BARETTA *et al.*, 2008; CARDOSO *et al.*, 2013; SCHEEREN *et al.*, 2000) nesse ambiente de produção de alta intensidade. A análise global dos dados permitiu, ainda, uma interpretação mais generalizada quanto aos efeitos do manejo do solo e uso da cultura do azevém na qualidade do solo. Como a qualidade do solo é dependente de vários fatores, a avaliação global de diversos indicadores chave foi mais confiável do que a análise caso a caso dos atributos.

4.5 CONCLUSÕES

Os sistemas de manejo do solo apresentaram maior impacto nos atributos microbiológicos e bioquímicos de qualidade do solo nos primeiros anos de implantação, enquanto que os efeitos do uso do azevém ganharam importância no médio prazo, em interação com os manejos do solo.

Os atributos microbiológicos e bioquímicos indicaram manutenção/melhoria da qualidade biológica do solo nos manejos menos impactantes (PD e PDS), bem como a manutenção do azevém como cobertura no inverno.

O conjunto de bioindicadores relacionados aos ciclos biogeoquímicos do C, do N e do P: C lábil, NBM, taxa de amonificação, e atividades das enzimas desidrogenase, celulase, β -glicosidase, fosfatase ácida e glutaminase foram eficientes em discriminar entre os sistemas de manejo e as formas de uso do azevém, em um sistema de produção de forragem de alta intensidade.

REFERÊNCIAS

- ALAM, M. K.; SALAHIN, N.; ISLAM, S.; BEGUM, R. A.; HASANUZZAMAN, M.; ISLAM, M. S.; RAHMAN, M. M. Patterns of change in soil organic matter, physical properties and crop productivity under tillage practices and cropping systems in Bangladesh. **Journal of Agricultural Science**, v. 155, n. 2, p. 216-238, 2017.
- ALEF, K. Soil respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, p. 214-219, 1995.
- ALMEIDA, F. S. Efeitos alelopáticos de resíduos vegetais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 221-236, 1991.
- ALVES, T. S.; CAMPOS, L. L.; ELIAS NETO, N., MATSUOKA, M.; LOUREIRO, M. F. Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes sistemas de manejos. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 33, n. 2, p. 341-347, 2011.
- 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 & Biochemistry**, v. 25, p. 393-395, 1993.
- BABUJIA, L. C.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BROOKES, P. C. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 2174-2181, 2010.

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

BARETTA, D.; BARETTA, C.R.D.M.; CARDOSO, E.J.B.N. Análise multivariada de atributos microbiológicos e químicos do solo em florestas com *Araucaria angustifolia*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, n.s., p.2683-2691, 2008.

BARETTA, D., BROWN, G.G., CARDOSO, E.J.B.N. Potencial da macrofauna e outras variáveis edáficas como indicadores da qualidade do solo em áreas com *Araucaria angustifolia*. **Acta Zoológica Mexicana**, n.esp. 2, p. 135-150, 2010.

BASTIDA, F.; ZSOLNAY, A.; HERNÁNDEZ, T.; GARCÍA, C. Past, present and future of soil quality indices: a biological perspective. **Geoderma**, v. 147, n. 3 - 4, p. 159 - 171, 2008.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; MARTIN-NETO, L. Efeito de sistemas de preparo e de cultura na dinâmica da matéria orgânica e na mitigação das emissões de CO₂. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 599-607, 2000.

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

BOLLIGER, A.; MAGID, J.; AMADO, T. J. C.; NETO, F. S.; RIBEIRO, M. F. S.; CALEGARI, A.; RALISCH, R.; NEERGAARD, A. Taking stock of the Brazilian “zero-till revolution”: a review of landmark research and farmers’ practice. **Advances in Agronomy**, v. 91, p. 47-110, 2006.

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

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

CAIRES, E. F; ALLEONI, L. R. F.; CAMBRI, M. A; BARTH, G. Surface application of lime for crop grain production under a no-till system. **Agronomy Journal**, v. 97, p. 791-798, 2005.

CAMARA, R. K.; KLEIN, V. A. Propriedades físico-hídricas do solo sob plantio direto escarificado e rendimento da soja. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 813-819, 2005.

CARDOSO, E.J.B.N.; VASCONCELLOS, R.L.F.; BINI, D.; MIYAUCHI, M.Y.H.; SANTOS, C.A.; ALVES, P.R.L.; PAULA, A.M.; NAKATANI, A.S.; PEREIRA, J.M.; NOGUEIRA, M.A. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health? **Scientia Agricola**, v.70, p. 274-89, 2013.

CARVALHO, J. L. N.; AVANZI, J. C.; SILVA, M. L. N.; MELLO, C. R. de; CERRI, C. E. P. Potencial de sequestro de carbono em diferentes biomas do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 2, p. 277-289, 2010.

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

DEFOREST, J.L.; ZAK, D.R.; PREGITZER, K.S.; BURTON, A.J. Atmospheric nitrate deposition, microbial community composition, and enzyme activity in northern hardwood forests. **Soil Science Society of America Journal**, v. 68, p. 132-138, 2004.

DORAN, J.W.; SAFLEY, M. Defining and assessing soil health and sustainable productivity. p. 1-28. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. (Ed.). **Biological indicators of soil health**. Wallingford: CAB International, 1997.

EL KHALIL, H.; SCHWARTZ, C.; EL HAMIANI, O.; KUBINIOK, J.; MOREL, J. L.; BOULARBAH, A. Distribution of major elements and trace metals as indicators of technosolisation of urban and suburban soils. **Journal of Soils and Sediments**, v. 13, n. 3, p. 519-530, 2013.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-Solos, 1997.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-Solos, 2006.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Healthy soils are the basis for healthy food production**. Rome: FAO, 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org/soils-2015/news/news-detail/en/c/277682/>>. Acesso em: 15 mar. 2016.

FRANCHINI, J.C., CRISPINO, C.C., SOUZA, R.A., TORRES, E., HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various tillage and crop-rotation systems in southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, v. 92, p. 18–29, 2007.

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

HAYNES, R.J. Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: an overview. **Advances in Agronomy**, v. 85, p. 221–268, 2005.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R.A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v.42, n. 3, p.288-296, 2009.

IBEWIRO, B.; SANGINGA, N.; VANLAUWE, B.; MERCKX, R. Nitrogen contributions from decomposing cover crop residues to maize in a tropical derived savanna. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v.57, p. 131-140, 2000.

JOIMEL, S.; SCHWARTZ, C.; HEDDE, M.; KIYOTA, S.; KROGH, P. H.; NAHMANI, J.; PÉRÈS, G.; VERGNES, A.; CORTET, J. Urban and industrial land use have a higher soil

biological quality than expected from physicochemical quality. **Science of the Total Environment**, v. 584-585, p. 614-621, 2017.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology & Biochemistry**, v.42, n.1, p.1-13, 2010.

KEENEY, D.R., NELSON, D.W., 1982. Nitrogen inorganic forms. In: PAGE, A. L. et al. (Ed.). **Methods of soil analysis** – pt. 2. Chemical and microbiological properties. Madison: American Society of Agronomy - Soil Science Society of America, 1982. p. 643-698.

LAUDICINA, V. A.; PALAZZOLO, E.; PIOTROWSKA-DLUGOSZ, A. P.; BADALUCCO, L. Soil profile dismantlement by land levelling and deep tillage damages soil function but not quality. **Applied Soil Ecology**, v. 107, p. 298-306, 2016.

MASTO, R. E.; PRAMOD, K.; SINGH, C. D.; PATRA, A. K. Changes in soil quality indicators under long-term sewage irrigation in a sub-tropical environment. **Environmental Geology**, v. 56, p. 1237–1243, 2009.

MOREL, J. L.; CHENU, C.; LORENZ, K. Ecosystem services provided by soils of urban, industrial, traffic, mining, and military areas (SUITMAs). **Journal of Soils and Sediments**, v. 15, n. 8, p. 1659-1666, 2015.

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

NAHAS, E. Control of acid phosphatases expression from *Aspergillus niger* by soil characteristics. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 58, n. 5, p. 658-666, 2015.

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

OBALUM, S. E.; CHIBUIKE, G. U.; PETH, S.; OUYANG, Y. Soil organic matter as sole indicator of soil degradation. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 4, p. 176, 2017.

PABST, H., KÜHNEL, A., KUZYAKOV, Y. Effect of land-use and elevation on microbial biomass and water extractable carbon in soils of Mt. Kilimanjaro ecosystems. **Applied Soil Ecology**, v. 67, p. 10-19, 2013.

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: Instituto Agronômico do Paraná, 1992.

- RAIESI, F.; KABIRI, V. Identification of soil quality indicators for assessing the effect of different tillage practices through a soil quality index in a semi-arid environment. **Ecological Indicators**, v. 71, p. 198-207, 2016.
- RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; BENSON, G.O. **How a corn plant develops**. Ames, Iowa State University of Science and Technology, 1993. 26 p. (Special Report, 48).
- SANTORUFO, L.; CORTET, J.; ARENA, C.; GOUDON, R.; RAKOTO, A.; MOREL, J. L.; MAISTO, G. An assessment of the influence of the urban environment on collembolan communities in soils using taxonomy-and trait-based approaches. **Applied Soil Ecology**, v. 78, p. 48-56, 2014.
- SANTOS, J. A.; FONSECA, A. F. da; BARTH, G.; ZARDO FILHO, R. Silage maize quality in different uses of Italian ryegrass and soil management methods after liming. **Archives of Agronomy and Soil Science**, 2017.
- SCHEEREN, L. W.; GEHRARDT, E. J.; FINGER, C. A. G.; LONGHI, S. J.; SCHNEIDER, P. R. Agrupamento de unidades amostrais de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze, em função de variáveis do solo, da serapilheira e das acículas, na região de Canela, RS. **Ciência Florestal**, v. 1, n. 2, p. 39–57, 2000.
- SCHINNER, F.; VON MERSE, W. Xylanase-, CM-cellulase- and invertase activity in soil: an improved method. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 22, n. 4, p. 511-515, 1990.
- SCHUSTER, E., SCHRODER, D. Side effects of sequentially-applied pesticides on target soil microorganisms: field experiments. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 22, n. 3, p. 367-373, 1990.
- SHAO, X.; YANG, W.; WU, M. Seasonal dynamics of soil labile organic carbon and enzyme activities in relation to vegetation types in Hangzhou Bay tidal flat wetland. **PLoS ONE**, v.10, n. 11, e0142677, 2015.
- SILVA, A.P.; BABUJIA, L.C.; FRANCHINI, J.C.; SOUZA, A.; HUNGRIA, M. Microbial biomass under various soil- and crop-management systems in short and long-term experiments in Brazil. **Field Crops Research**, v.119, p. 20-26, 2010.
- SMA – Sistema de Monitoramento Agrometeorológico. **Classificação climática - segundo Köppen**. Castro: Fundação ABC, 2017. Disponível em: <http://sma.fundacaoabc.org/climatologia/classificacao_climatica/grupo_abc/>. Acesso em: 3 jun. 2017.
- SOUZA, R.C.; CANTÃO, M.E.; VASCONCELOS, M.T.R.; NOGUEIRA, M.A.; HUNGRIA, M. Soil metagenomics reveals differences under conventional and no-tillage with crop rotation or succession. **Applied Soil Ecology**, 72:49-61. 2013.
- TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, J. S.; BOTTOMLEY P. S. (Ed.). **Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties**. Madison: Soil Science Society of America, 1994, p. 775–834.

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

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Assay of urease activity in soils. **American Journal of Soil Science Society**, v. 41, p. 350-352, 1972.

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIROS, M. C.; GIL-SOTRES, F. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2146-2155, 2008.

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

VIEIRA, R. C. B.; FONTOURA, S. M. V.; BAYER, C.; ERNANI, P. R.; ANGHINONI, I.; MORAES, R. P. Sampling Layer for Soil Fertility Evaluation in Long-Term No-Tillage Systems. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, e0150143, p. 1-11, 2016.

VILELA, H. H.; REZENDE, A.V.; VIEIRA, P.F.; ANDRADE, G.A.; EVANGELISTA, A.R.; ALMEIDA, G.B.S. Valor nutritivo de silagens de milho colhido em diversos estádios de maturação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 1192–1199, 2008.

YALCIN, H.; CAKIR, E. Tillage effects and energy efficiencies of subsoiling and direct seeding in light soil on yield of second crop corn for silage in Western Turkey. **Soil & Tillage Research**, v. 90, n. 1-2, p. 250-255, 2006.

YAO, H; BOWMAN, D.; SHI, W. Soil microbial community structure and diversity in a turfgrass chronosequence: land-use change versus turfgrass management. **Applied Soil Ecology**, v. 34, p. 209-218, 2006.

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.

ZIECH, A.R.D.; CONCEIÇÃO, P.C.; LUCHESE, A.V.; BALIN, N.M.; CANDIOTTO, G.; GARMUS, T.G. Proteção do solo por plantas de cobertura de ciclo hibernar na região Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, p. 347-382, 2015.

APÊNDICES

Apêndice 1 – Médias (desvio padrão) dos atributos químicos do solo sob quatro sistemas de manejo: cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e PD com subsolagem bianual (PDS); e três formas de uso do azevém no inverno: cobertura do solo, silagem pré-secada e pastejo animal (n=4). **Amostragem de 2008.**

	Cobertura	Silagem	Pastejo	Média
<i>Carbono orgânico total (g kg⁻¹)</i>				
CC	27,0	27,1	27,7	27,2 (1,4) B
CM	28,9	29,1	28,5	28,9 (0,9) AB
PD	29,1	29,5	28,9	29,2 (1,1) A
PDS	28,3	29,4	28,9	28,9 (1,0) AB
Média	28,3 (1,2) a	28,8 (1,4) a	28,5 (1,4) a	
Manejo: $p=0,02$; Uso: $p=0,48$; Manejo*Uso: $p=0,78$				
<i>Carbono lábil (mg kg⁻¹)</i>				
CC	360	383	369	371 (54,7) AB
CM	380	400	403	395 (41,4) A
PD	316	327	315	319 (17,7) B
PDS	379	370	378	376 (27,5) A
Média	359 (35,7) a	370 (51,7) a	366 (51,8) a	
Manejo: $p=0,01$; Uso: $p=0,75$; Manejo*Uso: $p=0,98$				
<i>Nitrogênio total (g kg⁻¹)</i>				
CC	2,0	2,0	2,0	2,0 (0,1) B
CM	2,2	2,2	2,2	2,2 (0,1) A
PD	2,3	2,3	2,2	2,3 (0,1) A
PDS	2,2	2,2	2,2	2,2 (0,1) A
Média	2,1 (0,1) a	2,2 (0,2) a	2,1 (0,2) a	
Manejo: $p=0,003$; Uso: $p=0,28$; Manejo*Uso: $p=0,87$				
<i>Fósforo disponível (mg dm⁻³)</i>				
CC	20,9	21,4	21,4	21,2 (5,3) A
CM	27,4	35,6	33,5	32,2 (9,0) A
PD	28,2	33,9	32,9	31,7 (10,8) A
PDS	27,4	31,4	23,0	27,3 (10,0) A
Média	26,0 (8,0) a	30,6 (11,2) a	27,7 (10,0) a	
Manejo: $p=0,08$; Uso: $p=0,20$; Manejo*Uso: $p=0,70$				
<i>Relação C:N solo</i>				
CC	13,7	13,7	14,0	13,8 (0,7) A
CM	13,3	13,5	13,3	13,4 (0,6) AB
PD	12,9	12,7	13,0	12,9 (0,5) B
PDS	13,1	13,0	13,4	13,2 (0,9) AB
Média	13,2 (0,5) a	13,2 (0,9) a	13,4 (0,8) a	
Manejo: $p=0,02$; Uso: $p=0,71$; Manejo*Uso: $p=0,99$				
<i>pH (CaCl₂)</i>				
CC	4,4	4,4	4,3	4,3 (0,1) A
CM	4,5	4,5	4,4	4,5 (0,1) A
PD	4,5	4,5	4,4	4,5 (0,1) A
PDS	4,3	4,4	4,4	4,3 (0,1) A
Média	4,4 (0,2) a	4,4 (0,1) a	4,4 (0,1) a	
Manejo: $p=0,30$; Uso: $p=0,20$; Manejo*Uso: $p=0,67$				

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$. Letras minúsculas comparam nas linhas; letras maiúsculas comparam nas colunas.

Apêndice 2 – Médias (desvio padrão) de respiração basal, C e N da biomassa microbiana e quociente metabólico (qCO_2) do solo sob quatro sistemas de manejo: cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e PD com subsolagem bianual (PDS); e três formas de uso do azevém no inverno: cobertura do solo, silagem pré-secada e pastejo animal (n=4). **Amostragem de 2008.**

	Cobertura	Silagem	Pastejo	Média
<i>Respiração basal (mg C-CO₂ kg⁻¹ d⁻¹)</i>				
CC	10,8	10,1	9,6	10,2 (1,3) B
CM	14,2	12,7	11,7	12,8 (1,8) A
PD	11,8	12,5	11,2	11,8 (1,6) A
PDS	12,5	12,6	10,7	11,9 (1,7) A
Média	12,3 (2,1) a	12,0 (1,7) ab	10,8 (1,3) b	
Manejo: $p < 0,001$; Uso: $p = 0,03$; Manejo*Uso: $p = 0,80$				
<i>Carbono da biomassa microbiana (mg kg⁻¹)</i>				
CC	286	225	305	272 (121,7) A
CM	314	184	265	254 (128,1) A
PD	395	399	384	393 (122,6) A
PDS	368	327	308	334 (88,1) A
Média	341 (96,3) a	284 (149,5) a	316 (125,8) a	
Manejo: $p = 0,08$; Uso: $p = 0,45$; Manejo*Uso: $p = 0,92$				
<i>Nitrogênio da biomassa microbiana (mg kg⁻¹)</i>				
CC	20,3	22,0	21,5	21,3 (7,4) B
CM	33,5	36,0	28,7	32,7 (6,3) A
PD	29,8	40,2	36,1	35,4 (7,8) A
PDS	36,4	38,1	30,4	35,0 (7,3) A
Média	30,0 (7,8) a	34,1 (11,3) a	29,2 (7,4) a	
Manejo: $p = 0,01$; Uso: $p = 0,06$; Manejo*Uso: $p = 0,35$				
<i>qCO_2 (mg C-CO₂ g⁻¹ CBM h⁻¹)</i>				
CC	1,8	2,6	1,5	2,0 (1,1) AB
CM	2,2	3,2	2,6	2,7 (1,4) A
PD	1,3	1,7	1,3	1,4 (0,7) B
PDS	1,5	1,8	1,5	1,6 (0,6) B
Média	1,7 (0,8) a	2,3 (1,3) a	1,7 (1,1) a	
Manejo: $p = 0,02$; Uso: $p = 0,26$; Manejo*Uso: $p = 0,98$				

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$. Letras minúsculas comparam nas linhas; letras maiúsculas comparam nas colunas.

Apêndice 3 – Médias (desvio padrão) da atividade de enzimas em solo sob quatro sistemas de manejo: cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e PD com subsolagem bianual (PDS); e três formas de uso do azevém no inverno: cobertura do solo, silagem pré-secada e pastejo animal (n=4). **Amostragem de 2008.**

	Cobertura	Silagem	Pastejo	Média
<i>Desidrogenase (mg TPF kg⁻¹ h⁻¹)</i>				
CC	10,4	9,3	13,5	11,1 (4,7) A
CM	14,2	12,6	8,7	11,8 (4,6) A
PD	13,4	13,6	10,8	12,6 (2,9) A
PDS	11,6	12,6	11,3	11,8 (2,1) A
Média	12,4 (4,3) a	12,0 (2,7) a	11,1 (3,9) a	
Manejo: $p=0,75$; Uso: $p=0,59$; Manejo*Uso: $p=0,30$				
<i>Celulase (mg AR kg⁻¹ h⁻¹)</i>				
CC	554	558	564	559 (48,3) B
CM	656	644	668	656 (67,0) A
PD	590	663	641	631 (97,9) AB
PDS	693	632	707	677 (98,6) A
Média	623 (86,2) a	624 (108,4) a	645 (77,9) a	
Manejo: $p=0,010$; Uso: $p=0,73$; Manejo*Uso: $p=0,83$				
<i>Asparaginase (mg N-NH₄⁺ kg⁻¹ h⁻¹)</i>				
CC	51,9	85,9	52,2	63,3 (26,9) A
CM	75,9	82,4	86,8	81,7 (26,7) A
PD	49,4	57,1	50,4	52,3 (14,9) A
PDS	68,1	67,5	47,2	60,9 (23,7) A
Média	61,3 (24,3) a	73,2 (22,5) a	59,2 (27,9) a	
Manejo: $p=0,053$; Uso: $p=0,25$; Manejo*Uso: $p=0,62$				
<i>Urease (mg N kg⁻¹ h⁻¹)</i>				
CC	59,9	62,7	62,8	61,8 (16,1) A
CM	71,6	88,7	96,6	85,6 (28,6) A
PD	79,4	94,2	82,1	85,3 (19,6) A
PDS	85,8	88,7	65,5	80,0 (14,0) A
Média	74,2 (16,7) a	83,6 (20,3) a	76,8 (27,9) a	
Manejo: $p=0,05$; Uso: $p=0,45$; Manejo*Uso: $p=0,54$				
<i>Fosfatase ácida (mg PNP kg⁻¹ h⁻¹)</i>				
CC	900	891	878	890 (25,5) B
CM	979	962	982	974 (31,8) A
PD	957	976	982	972 (43,8) A
PDS	964	993	980	979 (29,6) A
Média	950 (47,6) a	956 (51,4) a	955 (52,3) a	
Manejo: $p<0,001$; Uso: $p=0,88$; Manejo*Uso: $p=0,66$				

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a $p\leq 0,05$. Letras minúsculas comparam nas linhas; letras maiúsculas comparam nas colunas. TPF: 2,3,5-trifenil formazan, AR: açúcares redutores, PNP: p-nitrofenol.

Apêndice 4 – Médias (desvio padrão) das taxas de amonificação e de nitrificação em solo sob quatro sistemas de manejo: cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e PD com subsolagem bianual (PDS); e três formas de uso do azevém no inverno: cobertura do solo, silagem pré-secada e pastejo animal (n=4). **Amostragem de 2008.**

	Cobertura	Silagem	Pastejo	Média
<i>Taxa de amonificação (mg N-NH₄⁺ kg⁻¹ dia⁻¹)</i>				
CC	0,8	0,9	0,8	0,8 (0,2) A
CM	1,0	1,0	1,0	1,0 (0,2) A
PD	0,8	0,9	0,8	0,9 (0,1) A
PDS	1,0	1,0	0,7	0,9 (0,3) A
Média	0,9 (0,2) a	1,0 (0,2) a	0,8 (0,2) a	
Manejo: <i>p</i> =0,05; Uso: <i>p</i> =0,12; Manejo*Uso: <i>p</i> =0,64				
<i>Taxa de nitrificação (%)</i>				
CC	29,0	28,3	26,1	27,8 (4,3) B
CM	31,6	31,6	29,5	30,9 (4,1) AB
PD	33,6	32,3	33,4	33,1 (4,0) A
PDS	30,9	29,4	28,7	29,6 (3,5) AB
Média	31,3 (4,0) a	30,4 (4,4) a	29,4 (4,6) a	
Manejo: <i>p</i> =0,01; Uso: <i>p</i> =0,55; Manejo*Uso: <i>p</i> =0,99				

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$. Letras minúsculas comparam nas linhas; letras maiúsculas comparam nas colunas.

Apêndice 5 – Médias (desvio padrão) dos atributos químicos do solo sob quatro sistemas de manejo: cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e PD com subsolagem bianual (PDS); e três formas de uso do azevém no inverno: cobertura do solo, silagem pré-secada e pastejo animal (n=4). **Amostragem de 2013.**

	Cobertura	Silagem	Pastejo	Média
<i>Carbono orgânico total (g kg⁻¹)</i>				
CC	32,5	32,9	32,2	32,5 (1,6) A
CM	31,7	32,9	32,3	32,3 (1,5) A
PD	31,3	31,9	31,5	31,6 (1,5) A
PDS	31,9	32,1	32,3	32,1 (1,9) A
Média	31,9 (1,8) a	32,4 (1,6) a	32,1 (1,4) a	
Manejo: $p=0,63$; Uso: $p=0,60$; Manejo*Uso: $p=0,99$				
<i>Carbono lábil (mg kg⁻¹)</i>				
CC	271	287	331	296 (45,6) BC
CM	249	267	280	266 (47,7) C
PD	335	327	352	338 (37,1) A
PDS	312	355	310	326 (30,5) AB
Média	292 (44,2) a	309 (49,5) a	318 (51,1) a	
Manejo: $p=0,001$; Uso: $p=0,20$; Manejo*Uso: $p=0,44$				
<i>Nitrogênio total (g kg⁻¹)</i>				
CC	0,8	0,9	0,9	0,8 (0,1) A
CM	0,9	0,9	0,9	0,9 (0,05) A
PD	0,8	0,9	0,9	0,9 (0,1) A
PDS	0,9	0,8	0,8	0,9 (0,1) A
Média	0,9 (0,1) a	0,9 (0,1) a	0,9 (0,1) a	
Manejo: $p=0,29$; Uso: $p=0,49$; Manejo*Uso: $p=0,38$				
<i>Fósforo disponível (mg dm⁻³)</i>				
CC	29,2	28,7	28,3	28,7 (0,6) A
CM	28,7	28,4	27,3	28,2 (0,8) AB
PD	28,7	27,3	28,0	28,0 (1,3) B
PDS	29,0	28,4	27,8	28,4 (1,0) AB
Média	28,9 (0,4) a	28,2 (1,3) ab	27,8 (0,7) b	
Manejo: $p=0,03$; Uso: $p=0,007$; Manejo*Uso: $p=0,59$				
<i>Relação C:N solo</i>				
CC	40,4	38,7	38,1	39,0 (3,1) A
CM	36,4	36,7	37,5	36,9 (2,7) A
PD	37,8	35,4	37,2	36,8 (3,4) A
PDS	35,5	38,2	38,7	37,5 (3,2) A
Média	37,5 (3,6) a	37,2 (2,7) a	37,9 (3,2) a	
Manejo: $p=0,12$; Uso: $p=0,83$; Manejo*Uso: $p=0,52$				
<i>pH (CaCl₂)</i>				
CC	5,1 (0,04) B a	4,8 (0,2) A a	4,9 (0,1) A a	4,9
CM	5,4 (0,2) AB a	5,0 (0,3) A b	5,1 (0,1) A ab	5,1
PD	5,2 (0,1) AB a	5,2 (0,3) A a	4,8 (0,2) A b	5,1
PDS	5,5 (0,1) A a	4,9 (0,1) A b	4,9 (0,2) A b	5,1
Média	5,3	5,0	4,9	
Manejo: $p=0,34$; Uso: $p<0,001$; Manejo*Uso: $p=0,02$				

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a $p\leq 0,05$. Letras minúsculas comparam nas linhas; letras maiúsculas comparam nas colunas.

Apêndice 6 – Médias (desvio padrão) de respiração basal, C e N da biomassa microbiana e quociente metabólico (qCO₂) de solo sob quatro sistemas de manejo: cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e PD com subsolagem bianual (PDS); e três formas de uso do azevém no inverno: cobertura do solo, silagem pré-secada e pastejo animal (n=4). **Amostragem de 2013.**

	Cobertura	Silagem	Pastejo	Média
<i>Respiração basal (mg C-CO₂ kg⁻¹ d⁻¹)</i>				
CC	12,5 (0,8) AB a	11,3 (3,1) A a	9,8 (0,8) A a	11,2
CM	13,8 (0,6) A a	10,6 (2,0) A b	10,2 (1,6) A b	11,5
PD	10,2 (1,9) B a	10,9 (1,7) A a	7,1 (1,3) A b	9,4
PDS	15,4 (2,6) A a	8,3 (1,3) A b	9,4 (1,6) A b	11,0
Média	13,0	10,3	9,1	
Manejo: <i>p</i> =0,18; Uso: <i>p</i> <0,001; Manejo*Uso: <i>p</i> =0,002				
<i>Carbono da biomassa microbiana (mg kg⁻¹)</i>				
CC	263	211	243	239 (44,1) A
CM	308	260	286	285 (49,7) A
PD	210	200	233	214 (37,5) A
PDS	230	196	311	246 (68,9) A
Média	253 (58,6) ab	217 (40,5) b	268 (57,1) a	
Manejo: <i>p</i> =0,054; Uso: <i>p</i> =0,007; Manejo*Uso: <i>p</i> =0,17				
<i>Nitrogênio da biomassa microbiana (mg kg⁻¹)</i>				
CC	68,6 (9,9) A a	27,5 (3,6) A b	27,1 (5,8) AB b	41,0
CM	42,4 (9,4) B a	34,8 (13,1) A a	42,3 (11,7) A a	39,8
PD	35,2 (4,2) B a	21,4 (5,0) A a	24,3 (9,4) B a	27,0
PDS	44,0 (5,7) B a	29,4 (8,5) A ab	21,2 (9,9) B b	31,5
Média	47,6	28,3	28,7	
Manejo: <i>p</i> =0,006; Uso: <i>p</i> <0,001; Manejo*Uso: <i>p</i> =0,002				
<i>qCO₂ (mg C-CO₂ g⁻¹ CBM h⁻¹)</i>				
CC	2,1	2,3	1,7	2,0 (0,6) A
CM	1,9	1,7	1,6	1,7 (0,4) A
PD	2,0	2,3	1,3	1,9 (0,5) A
PDS	3,0	1,8	1,3	2,0 (1,0) A
Média	2,3 (0,8) a	2,0 (0,6) a	1,5 (0,4) b	
Manejo: <i>p</i> =0,61; Uso: <i>p</i> <0,001; Manejo*Uso: <i>p</i> =0,051				

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a *p*≤0,05. Letras minúsculas comparam nas linhas; letras maiúsculas comparam nas colunas.

Apêndice 7 – Médias (desvio padrão) da atividade de enzimas em solo sob quatro sistemas de manejo: cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e PD com subsolagem bianual (PDS); e três formas de uso do azevém no inverno: cobertura do solo, silagem pré-secada e pastejo animal (n=4). **Amostragem de 2013.**

	Cobertura	Silagem	Pastejo	Média
<i>Desidrogenase (mg TPF kg⁻¹ h⁻¹)</i>				
CC	16,3	8,5	8,1	11,0 (4,2) B
CM	23,3	12,5	15,5	17,1 (5,5) A
PD	15,9	16,1	10,1	14,0 (3,9) AB
PDS	18,7	11,6	12,5	14,3 (5,1) A
Média	18,5 (3,4) a	12,2 (4,7) b	11,6 (3,9) b	
Manejo: $p=0,001$; Uso: $p<0,001$; Manejo*Uso: $p=0,09$				
<i>Celulase (mg AR kg⁻¹ h⁻¹)</i>				
CC	456	375	472	435 (94,7) AB
CM	572	469	424	489 (116) A
PD	373	342	255	323 (96,7) B
PDS	389	415	289	365 (96,0) AB
Média	448 (113) a	400 (105) ab	360 (124) b	
Manejo: $p=0,02$; Uso: $p=0,04$; Manejo*Uso: $p=0,24$				
<i>β-glicosidase (mg PNP kg⁻¹ h⁻¹)</i>				
CC	112,4	111,0	106,1	109,8 (8,6) BC
CM	132,5	129,6	130,1	130,7 (17,8) A
PD	83,3	100,8	95,4	93,2 (15,4) C
PDS	136,2	101,6	103,6	113,8 (24,1) AB
Média	116,1 (25,5) a	110,7 (19,0) a	108,8 (20,3) a	
Manejo: $p=0,002$; Uso: $p=0,46$; Manejo*Uso: $p=0,12$				
<i>Glutaminase (mg N kg⁻¹ h⁻¹)</i>				
CC	1088 (68,8) C a	892 (180,4) B a	892 (87,5) A a	957
CM	1577 (101,1) BC a	1185 (376,1) AB a	1102 (73,5) A a	1288
PD	1842 (576,0) AB a	1802 (431,1) A a	1354 (467,6) A a	1666
PDS	2495 (449,0) A a	1018 (329,0) B b	1205 (606,0) A b	1573
Média	1751	1224	1138	
Manejo: $p=0,002$; Uso: $p<0,001$; Manejo*Uso: $p=0,007$				
<i>Fosfatase ácida (mg PNP kg⁻¹ h⁻¹)</i>				
CC	603	662	719	661 (59,6) B
CM	699	757	780	746 (91,3) A
PD	552	722	684	653 (83,1) B
PDS	560	686	682	643 (90,2) B
Média	604 (77,3) b	707 (73,4) a	716 (73,6) a	
Manejo: $p=0,01$; Uso: $p<0,001$; Manejo*Uso: $p=0,49$				

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a $p\leq 0,05$. Letras minúsculas comparam nas linhas; letras maiúsculas comparam nas colunas. TPF: 2,3,5-trifenil formazan, AR: açúcares redutores, PNP: p-nitrofenol.

Apêndice 8 – Médias (desvio padrão) das taxas de amonificação e de nitrificação em solo sob quatro sistemas de manejo: cultivo convencional (CC), cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e PD com subsolagem bianual (PDS); e três formas de uso do azevém no inverno: cobertura do solo, silagem pré-secada e pastejo animal (n=4). **Amostragem de 2013.**

	Cobertura	Silagem	Pastejo	Média
<i>Taxa de amonificação (mg N-NH₄⁺ kg⁻¹ dia⁻¹)</i>				
CC	0,7 (0,2) AB b	0,3 (0,2) AB b	1,3 (0,2) A a	0,7
CM	0,4 (0,3) B b	0,4 (0,3) AB b	1,7 (0,7) A a	0,8
PD	0,9 (0,3) AB ab	0,6 (0,5) A b	1,3 (0,2) A a	0,9
PDS	1,3 (0,2) A a	-0,2 (0,2) B b	1,7 (0,4) A a	0,9
Média	0,8	0,3	1,5	
Manejo: $p=0,68$; Uso: $p<0,001$; Manejo*Uso: $p<0,001$				
<i>Taxa de nitrificação (%)</i>				
CC	36,0	36,7	33,7	35,5 (2,0) A
CM	35,2	32,3	31,1	32,9 (3,2) B
PD	34,9	32,6	32,4	33,3 (2,6) AB
PDS	35,8	31,9	31,7	33,1 (3,0) B
Média	35,5 (2,0) a	33,4 (3,2) ab	32,2 (2,3) b	
Manejo: $p=0,02$; Uso: $p=0,004$; Manejo*Uso: $p=0,66$				

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a $p\leq 0,05$. Letras minúsculas comparam nas linhas; letras maiúsculas comparam nas colunas.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Os atributos microbiológicos e bioquímicos têm diferentes sensibilidades para discriminar o uso e o manejo do solo. Os atributos relacionados ao ciclo do carbono (carbono da biomassa microbiana e atividade da celulase) discriminaram alterações mais profundas no uso do solo, como a conversão da floresta nativa para a agricultura. Por outro lado, mudanças de menor magnitude, como o tempo de adoção do plantio direto, foram discriminadas de forma mais efetiva por atributos relacionados ao ciclo do nitrogênio (N da biomassa microbiana e atividade da glutaminase). No caso de uso intensivo do solo, em um sistema de produção de forragem, estabeleceu-se um conjunto de bioindicadores eficientes em discriminar entre os sistemas de manejos e usos de uma cultura de inverno: N da biomassa microbiana, atividade das enzimas desidrogenase, celulase, β -glicosidase, fosfatase ácida e glutaminase, taxa de amonificação e carbono lábil. Sugerimos que os bioindicadores N da biomassa microbiana e atividade da glutaminase sejam utilizados para se avaliar a qualidade de solo na região dos Campos Gerais, Paraná.

O tempo de adoção do manejo agrícola também interfere na qualidade do solo. Nos primeiros anos de implantação, os sistemas de manejo do solo têm maior impacto na qualidade do solo, enquanto que, no médio prazo, os efeitos do uso do azevém ganharam importância, em interação com os sistemas de manejo. Os atributos microbiológicos e bioquímicos indicaram manutenção/melhoria da qualidade biológica do solo no plantio direto, bem como a manutenção do azevém como cobertura no inverno.