

ISABEL CRISTINA VINHAL FREITAS

**BIOENSAIOS COM FÓSFORO E INDICADORES QUÍMICOS,
MICROBIANOS E BIOQUÍMICOS DO SOLO, EM ÁREAS SOB CERRADO,
PINUS E PLANTIO DIRETO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Solos, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Gilberto Fernandes Corrêa

Co-orientador

Prof. Dr. Adão de Siqueira Ferreira

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

ISABEL CRISTINA VINHAL FREITAS

**BIOENSAIOS COM FÓSFORO E INDICADORES QUÍMICOS,
MICROBIANOS E BIOQUÍMICOS DO SOLO, EM ÁREAS SOB CERRADO,
PINUS E SISTEMA PLANTIO DIRETO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Solos, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 26 de fevereiro de 2009.

Prof. Dr. Adão de Siqueira Ferreira
(co-orientador)

UFU

Prof. Dr. Beno Wendling

UFU

Prof. Dr. Renato Ribeiro Passos

UFES

Prof. Dr. Gilberto Fernandes Corrêa
ICIAG-UFU
(Orientador)

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

**À minha avó, Jerônima Vinhal, minha maior professora e mestre de vida,
pela dedicação, oportunidades, incentivo, amor e apoio sempre.**

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A DEUS, que me abençoa nessa caminhada.

A minha avó querida Jay, principalmente pela oportunidade, ao meu tio Silvio, mãe Sandra e irmãos Ge e Gaby, pelo apoio e amor. Amo vocês...

Ao professor Dr. Gilberto Fernandes Corrêa, por ser meu professor, amigo, agradeço pela orientação, amizade e ensinamentos valiosos na minha vida profissional.

Ao professor Dr. Adão de Siqueira Ferreira, pela orientação, por ter me ensinado a gostar de fazer pesquisa, e por tudo que aprendi, pela ajuda e por ter me acompanhado e dedicado seu tempo em todos os passos nessa pesquisa.

Ao funcionário Joaquim, pela ajuda na amostragem de solo.

Ao Professor Elias Nascentes Borges e aos laboratoristas Marco Aurélio, Cílon e Wilson, pela ajuda constante em tudo que precisei (soluções, equipamentos, espaço utilizado, café) no LAMAS.

Aos laboratoristas Manoel, Eduardo, Gilda e Marinho, pelo importante auxílio nas análises realizadas no LABAS, e à Andréia (secretária), pela amizade e ajuda.

Aos professores do ICIAG pelos ensinamentos, amizade e apoio.

Aos funcionários da secretaria do ICIAG, e principalmente aos secretários da coordenação da Pós-Graduação Eduardo e Cida, pela amizade, bom atendimento e apoio sempre que precisei.

À minha melhor amiga, Darlane Chaves, pelo carinho e apoio na minha vida inteira.

Aos meus amigos queridos do ICIAG e da Pós, pela amizade e torcida.

À Universidade Federal de Uberlândia, ao Instituto de Ciências Agrárias, pela oportunidade e incentivo. À FAPEMIG - Projeto EDT 0551/07 e à CAPES, por conceder a bolsa de mestrado.

E a todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

SUMÁRIO

| | Página |
|--|---------------|
| RESUMO | i |
| ABSTRACT | ii |
| | |
| CAPÍTULO 1 | 01 |
| 1 Introdução Geral | 02 |
| 2 Revisão Bibliográfica | 04 |
| 2.1 Desenvolvimento agrícola no bioma cerrado | 04 |
| 2.2 Sistemas de cultivo do solo | 05 |
| 2.2.1 Sistema plantio direto | 05 |
| 2.2.2 Sistema florestal | 06 |
| 2.3 Matéria Orgânica do Solo | 07 |
| 2.4 Qualidade do solo e uso sustentável dos solos | 10 |
| 2.5 Bioindicadores de qualidade do solo | 12 |
| 2.5.1 Respiração microbiana do solo | 12 |
| 2.5.2 Biomassa microbiana do solo | 13 |
| 2.5.3 Atividade enzimática do solo | 14 |
| 2.5.3.1 Fosfatases (EC 3.1.3) | 17 |
| 2.5.3.2 Glicosidases (EC 3.2) | 18 |
| 2.5.3.3 Desidrogenases | 19 |
| 2.5.4 O fósforo e o metabolismo microbiano | 20 |
| Referências Bibliográficas | 22 |
| | |
| CAPÍTULO 2: Atividade microbiana e respostas metabólicas à adição de fósforo e glicose, em Latossolo fase cerrado e sob diferentes usos | 34 |
| Resumo | 35 |
| Abstract | 36 |
| 1 Introdução | 37 |
| 2 Material e Métodos | 39 |
| 3 Resultados e Discussão | 44 |
| 4 Conclusões | 48 |
| Referências Bibliográficas | 49 |

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 3: Impactos do uso do solo nos indicadores microbianos, químicos e bioquímicos e carbono orgânico no cerrado | 53 |
| Resumo | 54 |
| Abstract | 55 |
| 1 Introdução | 56 |
| 2 Material e Métodos | 58 |
| 3 Resultados e Discussão | 62 |
| 3.1 Indicadores biológicos e carbono orgânico | 62 |
| 3.2 Atributos bioquímicos no solo | 64 |
| 3.3 Análise de componentes principais (ACP) | 67 |
| 4 Conclusões | 70 |
| Referências Bibliográficas | 71 |

RESUMO

VINHAL-FREITAS, ISABEL CRISTINA. **Bioensaios com fósforo e indicadores químicos, microbianos e bioquímicos do solo, em áreas sob cerrado, pinus e sistema plantio direto.** 2009. 75p. Uberlândia: UFU, 2009. 75p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Solos) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.¹

A atividade microbiana no solo exerce grande importância na regulação dos processos de transformação de carbono e nutrientes, a exemplo do fósforo. No entanto, a atividade da microbiota é fortemente ligada a práticas agrícolas de uso do solo. No capítulo I, o trabalho teve como objetivo comparar três sistemas de uso do solo, em relação à resposta da atividade microbiana e metabólica, quando da adição de fósforo e glicose em Latossolo fase Cerrado. Os sistemas de uso do solo foram: área de cerrado (CE), floresta de pinus com árvores de 32 anos (FP) e plantio direto (PD) com 11 anos. As amostras de solos foram coletadas na profundidade de 0-10 cm, nos meses de janeiro, junho e dezembro de 2008, e foram avaliadas quanto ao carbono liberado (C-CO₂) pela atividade microbiana; carbono orgânico total (COT); carbono da biomassa microbiana (CBM); glicose total (GT) e rendimento metabólico. A adição de doses crescentes de P aumentou a atividade respiratória dos solos dos três sistemas de uso. A adição de P aumentou a atividade microbiana (atividade respiratória, com incremento em biomassa microbiana) e rendimento metabólico (eficiência de utilização da glicose), principalmente se adicionado junto com uma fonte de carbono (glicose). O uso de testes de incubação do solo com adição de nutrientes pode ser usado para caracterizar o potencial de resposta metabólica de solos com características de uso diferentes, sendo úteis no conhecimento funcional dos solos da região do cerrado. No capítulo II, o objetivo foi avaliar os impactos de uso do solo de cerrado sobre as propriedades bioquímicas e da microbiota do solo, nas três áreas relatadas no capítulo I, coletadas na mesma profundidade (0-10 cm) e nas mesmas épocas do ano de 2008 (janeiro, junho e dezembro). As amostras de solos foram avaliadas quanto a: carbono orgânico total (COT); carbono da biomassa microbiana (CBM) e atividade enzimática (β -glicosidase, desidrogenase e fosfatases ácida, neutra e alcalina). Os sistemas de uso e as épocas de amostragem do solo afetaram os indicadores biológicos e as formas de carbono orgânico do solo. Dentre os sistemas de uso do solo, o PD se destacou apresentando valores superiores de atividade respiratória, COT, CBM e atividade da desidrogenase, β -glicosidase e fosfatase. O uso de indicadores microbianos e bioquímicos mostraram ser sensíveis às variações do uso do solo, sendo portanto indicados em estudos desta natureza. A análise de componentes principais (ACP) revelou o sistema PD e, por intermédio da avaliação conjunta dos indicadores microbiológicos e químicos do solo, foi superior aos sistemas CE e, principalmente, FP.

Termos de indexação: Sistemas de uso do solo, Respiração do solo, Carbono orgânico, Glicose, Fosfatase, β -glicosidase, Desidrogenase, Carbono da biomassa microbiana.

¹ Orientador: Gilberto Fernandes Corrêa – UFU (Orientador) e Adão de Siqueira Ferreira – UFU.

ABSTRACT

VINHAL-FREITAS, ISABEL CRISTINA. **Phosphorus bioassays and chemical, microbial and biochemical indicators of soil in areas under savannah, pinus forest and no-tillage.** 2009. 75p. Uberlândia: UFU, 2009. 75p. Dissertation (Master Program Agronomy/Soil Science) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia.²

The microbial activity of soil plays an important role in the regulation processes on the transformations of carbon and nutrients, including the phosphorus. However, the activity of soil microbes is strongly related to agricultural practices of the land use systems. The Chapter I had as objectives to compare three land use systems in relation to microbial activity and metabolic responses to phosphorus and glucose addition in typic Acrustox of savannah. The land use systems studied were: area of savannah (CE), pine forest (FP) with tree of 32 old year and no-tillage (PD) with 11 old years under management practices, the samples were collected at the depth of 0-10 cm, in months of January, June and December of 2008. The following were carried: amount of C-CO₂ evolved; total organic carbon (COT); total glucose (GT); microbial biomass carbon (CBM) e; metabolic yield (Y) to glucose and P addition in the soil. The addition of six doses of P increased the respiratory activity of the three systems of land use. The addition of P increased microbial activity (respiratory activity, with increase in microbial biomass) and metabolic efficiency (efficiency of utilization of glucose), especially when added together with a carbon source (glucose). The use of tests of incubation of soil with the addition of nutrients can be used to characterize the potential for metabolic response of soils with different characteristics, use, and useful in the functional knowledge of savannah soils. In Chapter II, the objective was to evaluate the impacts of land use of savannah on the biochemical properties and the soil microbiota in the three areas described in Chapter I, collected in the same depth (0-10 cm) and the same times of the year of 2008 (January, June and December). Samples of soils were evaluated for: total organic carbon (COT), microbial biomass carbon (CBM) and enzyme activity (acid phosphatase, alkaline and neutral and β -glucosidase). The systems in use and the times of sampling of soil affected the biological indicators and forms of soil organic carbon. Among the systems of land use, the PD is highlighted by presenting higher values of respiratory activity, COT, CBM and activity of dehydrogenase, β -glucosidase and phosphatase. The use of microbial and biochemical indicators showed to be sensitive to changes of land use and is therefore indicated in studies of this nature. The principal component analysis (ACP) revealed the PD system, through the evaluation of the microbiological and chemical indicators of soil was higher than the CE system and, especially, FP.

Keywords: Systems of land use, Phosphatase, β -glucosidase, Dehydrogenase, Microbial carbon biomass, Soil respiration, Organic carbon, Glucose.

² Guidance Committee: Gilberto Fernandes Corrêa – UFU (Major Professor) and Adão de Siqueira Ferreira – UFU.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

Atualmente, o debate a respeito dos impactos da agricultura no meio ambiente tem se tornado cada vez mais importante, não somente para se determinar as dimensões dos problemas que podem ser ocasionados pelas práticas agrícolas inadequadas, mas também para procurar as melhores formas de resolvê-los.

Dentre as alterações provocadas nos solos tropicais pelas diferentes formas de uso, as mudanças nos atributos microbiológicos e bioquímicos são as menos conhecidas. Assim, torna-se necessário a realização de estudos que possibilitem entender o funcionamento biológico e os efeitos provocados pelos diferentes manejos dos solos, bem como estabelecer indicadores relevantes de qualidade do solo. As mudanças provocadas na comunidade microbiana do solo pelos diferentes manejos podem influenciar o funcionamento do ecossistema e, conseqüentemente, na qualidade do solo. O uso inadequado do solo pode levar a perdas de carbono orgânico e nutrientes, reduzindo a capacidade produtiva deste ao longo dos anos.

As principais propriedades biológicas e bioquímicas utilizadas para avaliar o efeito das práticas de manejo na qualidade do solo são: taxa de respiração, atividade enzimática, biomassa microbiana, entre outras. Essas propriedades funcionam como bioindicadores, e possibilitam o monitoramento de mudanças ambientais decorrentes do uso agrícola em curto espaço de tempo. Em relação aos atributos biológicos, a biomassa microbiana fornece informações importantes sobre a dinâmica de um reservatório lábil da matéria orgânica, o que permite avaliar o tamanho da fração ativa. As análises enzimáticas podem fornecer dados sobre os impactos de atividades de manejo sobre os processos bioquímicos de importância nos solos, relacionados à comunidade microbiana. Entre as propriedades bioquímicas, a detecção de enzimas, como β -glicosidase, desidrogenase e fosfatases, pode ser utilizada para avaliar as transformações dos nutrientes no solo.

Em ambiente de cerrado, predominam os Latossolos, os quais têm, geralmente moderada, a baixa fertilidade, e o P é adsorvido fortemente, sendo pouco disponível para as plantas. Para isso, os agricultores utilizam fertilizantes inorgânicos para sustentar a produção vegetal e a fertilidade do solo. No entanto, existe uma escassez de informações sobre o efeito de fertilizantes na atividade microbiana do solo. Uma maior compreensão sobre nutrientes e a atividade microbiana pode melhorar a base teórica e aplicação prática de estratégias de manejo do solo.

A maioria dos estudos que analisam as limitações nutricionais sobre a atividade microbiana tem sido feitos em solos temperados. Os poucos estudos que analisaram limitações de nutrientes em solos altamente intemperizados, como os Latossolos, concluíram que o P é o nutriente mais limitante, devido ao seu conteúdo geralmente alto de sesquióxidos de Fe e/ou Al nestes solos, o que pode causar a adsorção do P.

Assim, os objetivos deste trabalho foram: comparar três sistemas de uso do solo, em relação à resposta da atividade microbiana e metabólica, quando da adição de fósforo e glicose em Latossolo fase cerrado, e avaliar o impacto do uso do solo nos indicadores microbianos e bioquímicos, avaliando-se a atividade das enzimas β -glicosidase, fosfatases (ácida, neutra, alcalina) e desidrogenase, em área de cerrado e sob dois sistemas de uso do solo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Desenvolvimento Agrícola no Bioma Cerrado

O Bioma Cerrado é um ecossistema típico da zona tropical brasileira e abrange uma área de aproximadamente 204 milhões de hectares. É caracterizado por uma vegetação de fisionomia e flora próprias, e sua paisagem segue um gradiente que vai desde o campo limpo ao cerradão, com característica de campo sujo de cerrado, campo cerrado e cerrado (*stricto sensu*) (RIBEIRO; WALTER, 1998).

Os solos mais característicos de áreas de cerrado são os da classe dos Latossolos. Segundo Goedert (1980), os Latossolos apresentam baixo conteúdo de matéria orgânica, têm baixa capacidade de troca catiônica e são altamente intemperizados e permeáveis, bem estruturados e com alta estabilidade de agregados. São solos, em geral, muito profundos, com potencial para utilização agrícola, podendo a baixa fertilidade e a alta acidez serem corrigidas mediante a adoção de tecnologias de manejo (RAMALHO FILHO; BEEK, 1994).

A ocupação das terras da região do Cerrado transformou essa região na principal produtora de carne bovina e grãos no Brasil. Esse alto potencial agrícola ocorreu devido a programas de desenvolvimento e ocupação desse ecossistema, graças ao avanço tecnológico no manejo do solo e da biotecnologia, nos diferentes agroecossistemas e da seleção de cultivares adaptados às condições edafoclimáticas da região (VILELA et al., 2002).

Até a década de 80, verificou-se um crescimento acentuado de mais de 300% nas pastagens cultivadas no cerrado brasileiro. No entanto, as culturas de milho e soja também ganharam grande destaque, com intensificação dessa atividade, evoluindo em área plantada, produção e produtividade (KLUTHCOUSKI et al., 2003).

No entanto, ao longo do tempo, o uso e a manutenção dessas áreas com uso intensificado dependem do manejo e das características físicas, químicas e biológicas do solo. É necessário que os recursos naturais envolvidos no processo produtivo agropecuário sejam conservados ou melhorados para se desenvolver uma agricultura sustentável nos agroecossistemas brasileiros.

2.2 Sistemas de Cultivo do Solo

2.2.1 Sistema Plantio Direto

A prática de plantio direto ganhou significativo espaço no Brasil a partir da década de 70, no Sul do país. Surgiu como alternativa no combate à erosão, que era um sério problema, causando o assoreamento de mananciais e a perda da camada fértil do solo. Estima-se que, no Brasil, cerca de 2 a 2,5 bilhões de toneladas de solo são perdidas anualmente por causa da erosão hídrica (CORREIA, 2009).

Os benefícios do sistema plantio direto (SPD) na estrutura do solo está relacionado ao mínimo revolvimento deste, que se restringe ao sulco de plantio feito em meio aos resíduos da cultura anterior. Diversos estudos têm demonstrado que os resíduos culturais, deixados sobre o solo no sistema de plantio direto, têm contribuído no aumento do conteúdo de matéria orgânica, da atividade microbológica, na disponibilidade de nutrientes e infiltração de água no solo (DORAN et al., 1984; WHILHELM et al., 1986; PEIXOTO, 1997).

A liberação de nutrientes no solo a partir da mineralização da palhada depende da ocorrência de condições ambientais (umidade, temperatura, pH, entre outras) adequadas à atividade dos microrganismos presentes no meio e que atuam no processo. Também é fundamental que a relação C/N dos resíduos seja adequada. Quando essa relação é superior a 30, há um aumento da imobilização do nitrogênio pelos próprios microrganismos, enquanto que relações inferiores a 30 favorecem a decomposição do material orgânico e a liberação de N ao solo. Tem sido observado que a taxa de liberação de nitrogênio é menor nos primeiros anos de implantação do plantio direto. Com o decorrer do tempo, há um restabelecimento do equilíbrio na relação C/N, que favorece a maior liberação do nitrogênio ao sistema solo-planta (MUZILLI, 2001).

Outro benefício constatado em solos protegidos pela palhada em PD é a maior liberação de fósforo, em função de: a) preservação da umidade, facilitando a difusão do fósforo na solução do solo e sua absorção pelas plantas; b) diminuição do contato dos íons fosfatos com as partículas de argila pelo não revolvimento do terreno, amenizando a adsorção do P pelo solo. A dinâmica das diferentes formas de P-lábil também é favorecida pelo PD. As formas inorgânicas de P-lábil diminuem em profundidade e tendem a se acumular nas camadas superficiais do solo. Nesse caso, a adequada proteção da superfície do terreno com palhada manterá a umidade nas camadas

superficiais, facilitando a solubilização e a difusão dessas formas inorgânicas. De outro lado, formas lábeis de P-orgânico, contidas nos restos de raízes das culturas e das plantas de cobertura, tendem a acumular-se nas camadas mais profundas do perfil cultural do solo. À medida que esses restos de raízes se decompõem, haverá liberação gradativa de P-lábil nas camadas mais profundas do perfil cultural do solo (MUZILLI, 2001).

O aumento do conteúdo de matéria orgânica e o aporte de nutrientes no solo dependerão do tempo de adoção do PD e da natureza dos resíduos vegetais adicionados ou mantidos sobre o terreno, além de condições ambientais (umidade, temperatura, pH) favoráveis à atividade microbiana no sistema solo-planta.

Um maior acúmulo de matéria orgânica na superfície do solo como ocorre nesse sistema de uso do solo, devido ao pouco revolvimento e manutenção de uma cobertura vegetal, beneficia o crescimento dos microrganismos (BALOTA et al., 2004a). Os aumentos de matéria orgânica no solo podem ser superiores neste sistema, em relação ao plantio convencional.

Contudo, é relevante salientar que a manutenção de uma cobertura do solo no Cerrado da região sudeste do Brasil é dificultada pelo clima, pois a seca é bastante prolongada e a palhada é rapidamente decomposta. Porém, quando esse sistema é bem manejado e esses resíduos permanecem em superfície do solo, funcionando como fonte de energia (carbono) e nutrientes para a maioria das populações microbianas, pode proporcionar um aumento na atividade biológica e intensificar as relações ecológicas (POWLSON et al., 1987).

2.2.2 Sistema Florestal

Nas décadas de 1970 e 1980, a expansão acelerada da atividade florestal no Brasil estimulou o plantio de florestas na região do Cerrado (JUVENAL; MATTOS, 2002), devido às condições edafoclimáticas e fisiográficas da região serem favoráveis ao estabelecimento de plantios de eucalipto e pinus.

A atividade florestal pode ter efeito benéfico no seqüestro de carbono, diminuindo assim concentrações significativas de dióxido de carbono na atmosfera. Contudo, é atribuída como causadora de grandes desequilíbrios ambientais, pois a exploração dessas florestas está associada ao desmatamento, além de alterar significativamente as propriedades químicas, físicas e biológicas dos solos. Esse tipo de

monocultivo gera perda da biodiversidade local, modifica a diversidade de substrato à biota do solo, alterando, por sua vez, alguns atributos biológicos, como, por exemplo, C-biomassa microbiana, respiração microbiana do solo, além de alterar a densidade e diversidade da fauna edáfica (BARETTA et al., 2003).

O reflorestamento ocorre geralmente em solos de baixa fertilidade, a exemplo dos Latossolos. O uso de fertilizantes no reflorestamento é feito geralmente somente na época do plantio, sendo o modo de aplicação quase sempre na cova (MELO; RESCK, 2002).

A serrapilheira que é acumulada pela deposição de material orgânico pelo *Pinus* é uma das principais formas de transferência de nutrientes no ecossistema florestal, sendo parte importante na ciclagem destes (POGGIANI; MONTEIRO JUNIOR, 1990; PERES et al., 1983). Esse processo depende da espécie, local e idade do povoamento, com a densidade, composição de espécies, época do ano e atividade dos microrganismos (FONSECA et al., 1993). A decomposição da serrapilheira em *Pinus caribaea* é baixa, como observado por Melo e Resck (2002). Esses autores relataram que o maior acúmulo de serrapilheira ocorre no período seco, e vários fatores interferem na velocidade de decomposição, sendo que, no caso do *Pinus*, o fator que mais influencia é a composição química do material, como a presença de resina e o conteúdo de lignina.

Esses estudos sobre as possíveis modificações que as plantações de pinus podem provocar nas propriedades microbiológicas dos solos, e sobre a ciclagem de nutrientes nesse sistema de uso do solo são escassos. Assim, torna-se necessário saber a que ponto essas alterações e o estabelecimento desse monocultivo por vários anos podem prejudicar a qualidade desses solos, considerando-se que a introdução e adaptação do pinus na região do cerrado é uma invasão biológica, que não faz parte desse ecossistema, mas que passa a provocar mudanças no funcionamento do solo (ZILLER, 2000).

2.3 Matéria Orgânica do Solo

A matéria orgânica do solo (MOS) engloba os resíduos vegetais em estágios variados de decomposição, a biomassa microbiana, as raízes e a fração mais estável, denominada húmus (THENG et al., 1989), as quais condicionam as características químicas, físicas e biológicas do solo. Sua decomposição é fundamental para regular as

taxas líquidas de carbono no estoque do solo e a ciclagem de nutrientes nos ecossistemas terrestres.

A MOS é um componente fundamental da capacidade produtiva dos solos, por causa dos seus efeitos sobre a disponibilidade de nutrientes, a capacidade de troca de cátions do solo, a complexação de elementos tóxicos e micronutrientes, a agregação, a infiltração, a retenção de água e a aeração.

Nas regiões tropicais, de maneira geral, os solos apresentam um grau avançado de intemperismo, havendo predomínio, na fração argila, de minerais, como óxidos de Fe e Al – entre outros – e argilossilicatos, como caulinita. No Latossolo, há proteção física da matéria orgânica devido a essas interações com superfícies minerais de óxidos de Fe e pela maior capacidade de formação de agregados, sendo esses fatores determinantes dos estoques de MOS em sistemas tropicais. Em condições naturais, as altas taxas de decomposição da MOS são contrabalanceadas pela adição de maiores quantidades de C pela vegetação (SANTOS et al., 2008).

O efeito da MOS sobre os microrganismos pode ser avaliado a partir da biomassa e atividade microbiana (respiração e atividade enzimática), pois esses fatores representam uma integração de efeitos sobre as condições biológicas do solo (BAYER; MIELNICZUK, 2008).

A biomassa microbiana é composta pela parte viva da matéria orgânica do solo, a qual controla a decomposição e o acúmulo da MOS através dos processos de imobilização e mineralização (SINGH et al., 1989). Assim, a MOS contribui para o processo de reciclagem de nutrientes no sistema solo-planta.

Os compostos orgânicos de origem vegetal são, em sua maioria, de natureza complexa, mas de composição conhecida, constituindo-se de substâncias à base de C, H, O, N, P, S. A disponibilidade, a qualidade e o tipo de vegetação existente na área influenciada pelos fatores ambientais é que vão definir a heterogeneidade e a taxa de decomposição do material depositado na superfície do solo (CORREIA; ANDRADE, 2000; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A decomposição da matéria orgânica no solo é realizada pelo processo biológico, sendo inicialmente desintegrada pela ação da pedofauna, através de meios físicos e mecânicos. Em seguida, sob condições de temperatura, pH e umidade, os microrganismos processam a decomposição dos resíduos orgânicos devido à ação de enzimas hidrolíticas extracelular. De acordo com Silva e Resk (1997), no processo de mineralização, o carbono retorna para a atmosfera na forma de CO₂, o nitrogênio pode

se tornar disponível nas formas de NO_3^- e/ou NH_4^+ , e outros elementos, como S, P e vários micronutrientes tornam-se assimiláveis pelas plantas superiores. Contudo, parte dos nutrientes é assimilada e armazenada pelos microrganismos e outra parte é convertida em húmus estável pela ação de enzimas (SINGH; GUPTA, 1977; SWIFT et al., 1979). Para a maioria dos solos, a via aeróbica é a de maior importância. A decomposição dos resíduos progride pela atividade inter-relacionada dos vários microrganismos diferentes no solo. Os substratos mais simples que são prontamente assimilados podem ter uma competição, pela comunidade de microrganismos, quando o material é incorporado. Os mais complexos e resistentes substratos, como polímeros de carboidratos, podem inicialmente atrair um grupo de microrganismos que quebram o polímero para componentes mais simples. Este é seguido pela atividade de outros grupos de microrganismos que podem usar esses componentes mais simples (SYLVIA et al., 1999).

Embora os resíduos da agricultura consistam primariamente de vários complexos de polímeros, eles também contêm pequenas quantidades de constituintes orgânicos bastante simples e geralmente solúveis, que podem ser prontamente utilizados pela microbiota do solo. Em ambientes favoráveis, esses constituintes simples podem ser completamente convertidos para novas estruturas celulares e dióxido de carbono, em poucos dias (SYLVIA et al., 1999). Por exemplo, estudos com um açúcar simples como a glicose mostram que esse substrato é completamente metabolizado pelos microrganismos de solo em um ou dois dias (SYLVIA et al., 1999), podendo ser usado como medida de mineralização potencial de carbono orgânico no solo.

As populações microbianas consomem rapidamente o substrato oxidável e morrem, tornando-se substrato para diferentes populações que também usam outros substratos menos prontamente assimiláveis, oriundos do resíduo vegetal original ou da síntese microbiana. Desse modo, quando não há novas adições de resíduo, há uma sucessão no sentido de especialização metabólica para microrganismos com capacidade de utilizar resíduos mais estáveis quimicamente, e a biomassa muda quantitativamente, supondo que sua qualidade ou composição seja também alterada (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Pesquisas já mostraram que modelos que descrevem taxas de decomposição e respiração heterotrófica do solo são primariamente em função de fatores abióticos do ambiente, como temperatura, umidade, qualidade e quantidade do substrato (MEENTEMEYER, 1978; SWIFT et al., 1979; SCOTT-DENTON et al., 2003;

SCOTT-DENTON et al., 2006). Cattelan e Vidor (1990) demonstraram que, em sistemas de cultura em plantio direto (PD) que apresentaram o maior retorno de resíduos vegetais, os incrementos nos conteúdos de MOS resultaram em maiores valores de biomassa e atividade microbiana, sendo esta estimada pela liberação de CO₂.

Os modelos conceituais e empíricos de decomposição da MOS pelos microrganismos tratam a comunidade microbiana como catalisadores passivos de reações de decomposição de substratos, cujas taxas variam em função apenas da temperatura e da umidade (RAICH; SCHELESINGER, 1992; LLOYD; TAYLOR, 1994; PARTON et al., 1994).

2.4 Qualidade e Uso Sustentável dos Solos

As preocupações com os efeitos da ação antrópica sobre os biomas terrestres são bastante recentes. O conceito de desenvolvimento sustentável é aquele que “atende as necessidades do presente, sem comprometer as possibilidades das gerações futuras de atenderem às suas próprias necessidades” (CMMAD, 1991).

A sustentabilidade do cerrado depende da preservação de sua capacidade de recuperação após a ocorrência de perturbações. A massiva introdução de espécies exóticas altera os ciclos biogeoquímicos, modificam o regime de fogo e são competidoras de espécies nativas, podendo levá-las à extinção e reduzindo a biodiversidade do bioma. Para se atingir um desenvolvimento sustentável no cerrado, há que se considerar suas particularidades ambientais, econômicas e sociais, propor políticas de conservação e utilização de sua biodiversidade (FONSECA, 2009).

É fato que a vegetação natural quando substituída pelo processo agrícola, sofre um desequilíbrio, quase sempre irreversível, que ocasiona alterações nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, gerando impactos ambientais. A proporção dos impactos está diretamente relacionada com o manejo do sistema produtivo adotado, e por isso as práticas agrícolas que pretendem minimizar a degradação do solo e proporcionar maior sustentabilidade da agricultura, a exemplo do plantio direto, têm recebido cada vez mais a atenção de pesquisadores e produtores (BALOTA et al., 1998). Não se deve descartar que as alterações num solo onde antes havia vegetação nativa são feitas para comportar uma cultura com alta produtividade, mas a questão é manejar o solo ao longo do tempo mantendo ou aumentando essa produtividade.

A qualidade do solo pode ser definida como a capacidade contínua do solo de aceitar, estocar água, nutrientes e energia, bem como reter, dispersar e transformar materiais químicos e biológicos, funcionando como um tampão ou filtro ambiental. A qualidade de qualquer solo depende da sua natureza, que é função dos fatores de formação e da interferência antrópica relacionada ao uso e manejo (GREGORICH et al., 1994).

Os microrganismos têm sido cada vez mais associados à qualidade do solo, tanto por seu papel fundamental na manutenção dos ecossistemas, como por sua sensibilidade a variações nos muitos fatores que compõem os ambientes (SILVEIRA; FREITAS, 2007).

A atividade microbiana, pelas suas reações biológicas e bioquímicas, é que é responsável pela decomposição dos resíduos de plantas, animais, pela ciclagem biogeoquímica e pela formação de agregados (ELSAS, 1997). Por isso, os microrganismos do solo são considerados como indicadores sensíveis na avaliação dos impactos antropogênicos sobre os processos biológicos no solo (DICK, 1994; DORAN; PARKINSON, 1994; TURCO et al., 1994), pois reagem rapidamente diante da qualidade de seu ambiente.

Atualmente, a agricultura moderna tem demandado uma crescente necessidade de estimar de modo eficiente e rápido as modificações que ocorrem no solo. De forma geral, os indicadores, sejam eles químicos, físicos ou biológicos, servem para monitorar a qualidade do solo, sendo a medição de diferentes propriedades ou processos que ocorrem no solo feita de acordo com a função para a qual o solo está sendo avaliado (SCHMITZ, 2003).

Apesar dos microrganismos terem a capacidade de responder rapidamente às modificações no solo, os atributos biológicos sozinhos não são suficientemente eficazes para avaliarem a qualidade do solo. Contudo, as informações geradas através dos atributos biológicos, físicos e químicos associados podem beneficiar o maior conhecimento sobre como estão ocorrendo os processos relacionados ao funcionamento do solo, indicando como está sendo manejado, identificando e caracterizando sistemas agrícolas sustentáveis com impactos negativos mínimos ao meio-ambiente. Essa caracterização do solo também pode auxiliar o planejamento e o desenvolvimento rural.

É importante mencionar que há uma escassez de dados em relação aos indicadores biológicos do solo. Portanto, tornam-se mais frequentes estudos que avaliam atributos microbiológicos como indicadores sensíveis da qualidade de solos

(KENNEDY; SMITH, 1995; AON et al., 2001; CHAER, 2001). Assim, esse trabalho contribui na formação de um banco de dados com informações sobre os possíveis indicadores biológicos e como ocorrem alguns processos no metabolismo microbiano no solo.

2.5 Bioindicadores de Qualidade do Solo

2.5.1 Respiração Microbiana do Solo

Atualmente é muito importante estudar o fluxo de carbono global, sendo que a maior parte da atividade respiratória ocorre no solo. De forma geral, a respiração do solo é representada pela atividade da microbiota em decompor os resíduos orgânicos e pela respiração das raízes.

Esses estudos começaram no século XVIII, onde o esclarecimento sobre a terra com o acompanhamento do acelerado cultivo e respiração do solo era o maior contribuinte ao acúmulo de dióxido de carbono na atmosfera daquele tempo até 1950 (SCHELESINGER, 1986; POST et al., 1990). Não obstante, a MOS, em solos minerais, tem o maior estoque de carbono global, contendo aproximadamente duas vezes mais carbono do que a atmosfera. Assim, qualquer mudança nesta associação pode influenciar significativamente no nível de dióxido de carbono (CO₂) global (SYLVIA et al., 1999).

Em um agroecossistema, os resíduos de colheita constituem a fonte primária de carbono que fornece substrato para a biota do solo e há o aumento da liberação do dióxido de carbono pela respiração na atmosfera local. Os resíduos orgânicos do solo se constituem em um reservatório de energia estocados em compostos de carbono. Os microrganismos heterotróficos do solo precisam da energia nas fontes de carbono derivadas através da fotossíntese das plantas verdes para crescimento, reprodução e sobrevivência. A microbiota do solo usa os componentes dos resíduos como substrato para energia e também fonte de C na síntese de novas células. A energia é fornecida para as células microbianas através da oxidação dos compostos orgânicos. O maior produto final é o dióxido de carbono, o qual é devolvido à atmosfera. Assim, o fluxo de carbono através do solo depende da eficiência com que a microbiota utiliza os resíduos como substratos para o crescimento (SYLVIA et al., 1999). Por meio de mecanismos bioquímicos específicos, os componentes individuais dos resíduos são decompostos e

mineralizados, transformando-se em CO₂, biomassa microbiana e liberando os elementos minerais. Deve-se ressaltar que a biomassa produzida representa uma imobilização, geralmente temporária, de energia e nutrientes.

A respiração do solo é um dos mais antigos indicadores na quantificação da atividade microbiana. Representa a oxidação da matéria orgânica por organismos aeróbios do solo, que utilizam O₂ como acceptor final de elétrons, liberando CO₂. Pode-se medir a respiração basal da amostra (com a matéria orgânica preexistente) ou com indução por substrato, adicionando-se uma fonte orgânica específica, como por exemplo a glicose (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). O tipo de determinação mais utilizado, quando feita em laboratório, é a medida do CO₂, liberado através da titulação (quando capturado por NaOH ou KOH), cromatografia gasosa, espectroscopia de infravermelho ou por ¹⁴C (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A atividade microbiana no solo é afetada pela disponibilidade de substratos orgânicos facilmente disponíveis (FRIEDEL et al., 1996; KLOSE et al., 1999). A glicose é um dos substratos facilmente degradáveis no solo, e a sua adição ao solo geralmente aumenta a respiração, pois estimula o crescimento microbiano, em poucas horas, aumentando também a atividade enzimática e a biomassa microbiana (ANDERSON; DOMSH, 1973; DROBNIK, 1960; LIN; BROOKES, 2000; NANNIPIERI et al., 1978, 1979; SPARLING, 1995). Barja & Nunez (1999) relatam valores de aumento na respiração de até 15 mg CO₂ g⁻¹ de solo dia⁻¹. Stotzky (1965) demonstrou, em estudos, que a respiração pode ser inibida pela escassez de nutrientes no solo, mesmo com a adição de altas taxas de glicose.

A atividade respiratória do solo reflete os processos metabólicos, principalmente da comunidade microbiana, e está estritamente relacionada à mineralização dos resíduos orgânicos (PAUL, 2007), sendo um atributo biológico de grande relevância em mostrar alterações do ambiente. Essa atividade está associada à capacidade de utilização de carbono prontamente disponível como fonte de carbono e energia aos microrganismos heterotróficos do solo, como bactérias e fungos.

2.5.2 Biomassa microbiana do solo

A ciclagem de nutrientes, bem como a formação e/ou decomposição da matéria orgânica, são processos bioquímicos e biológicos do solo que dependem diretamente da

atividade microbiana e influenciam diretamente na produtividade e qualidade dos ecossistemas terrestres (LANNA,2002).

Segundo Moreira & Siqueira (2006), biomassa microbiana do solo (BMS) é a parte viva da matéria orgânica do solo, composta por todos os organismos menores que $5 \times 10^{-3} \mu\text{m}^3$, sendo a principal fonte de enzimas no solo e a responsável praticamente por toda a atividade biológica, atuando como catalisador nas transformações bioquímicas, sendo fonte e dreno de C e troca de nutrientes entre a atmosfera e o ecossistema. Assim, a BMS compreende uma fonte potencial de nutrientes para as plantas, como N, P, S, sendo que os fluxos através do reservatório microbiano são de grande importância no solo (DE-POLLI; GUERRA, 1999; KUONO et al., 2002).

A quantidade de biomassa varia muito com o tipo de solo, vegetação e clima. Conforme relatos de Moreira & Siqueira (2006), a quantidade da BMS é favorecida em solos com vegetação, especialmente naqueles com teores mais elevados de argila ou sob sistema de plantio direto, sendo geralmente reduzida nos solos cultivados pelo sistema convencional, nos solos arenosos ou degradados por erosão ou contaminados.

Os principais métodos empregados na quantificação da BMS são: o da fumigação-extração, fumigação-incubação e irradiação-extração, e representam um grande avanço metodológico diante das dificuldades e limitações das contagens microbianas em placas com meios seletivos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; FERREIRA et al., 1999).

A determinação da BMS permite obter informações rápidas sobre mudanças nas propriedades orgânicas do solo, podendo ser utilizada para detectar mudanças causadas por sistemas de cultivo agrícola ou desmatamento de florestas, medir regeneração dos solos após a remoção da camada superficial e avaliar os efeitos de metais pesados e pesticidas em áreas contaminadas (FRIGHETTO, 2000). Conforme Grisi (1996), embora as informações obtidas através da determinação da BMS possam ser consideradas pouco informativas, sua quantificação permite relacionar as características citadas acima com qualidade do solo e produtividade.

2.5.3 Atividade enzimática do solo

Muitas enzimas do solo, particularmente aquelas que hidrolisam compostos orgânicos, são produzidas por plantas, animais e, em muitos casos, predominantemente pelos microrganismos, podendo estar presentes nas células mortas, e também

adsorvidos nas argilas ou incorporadas em substâncias húmicas (BURNS, 1978, 1982; NANNIPIERI et al., 1990, 1996A; SKUJINS, 1978).

Portanto, as enzimas podem estar associadas ou não à proliferação de microrganismos. As enzimas extracelulares podem ser estabilizadas ao longo de grandes períodos de suas interações com a matriz do solo, e podem, portanto, ser insensíveis às condições ambientais que afetam os microrganismos (DILLY; NANNIPIERI, 2001). Em contrapartida, os microrganismos respondem às mudanças ambientais sensivelmente, e ajustam suas sínteses enzimáticas de acordo com a necessidade. O problema para a interpretação da medida da atividade enzimática é decidir quais combinações de indicadores de atividade microbiana vão ser determinados experimentalmente (BURNS, 1982; NANNIPIERI et al., 1996b).

As enzimas têm participação essencial nos processos relacionados à qualidade do solo, pois é através delas que os microrganismos do solo vão degradar moléculas orgânicas complexas em moléculas simples, para serem assimiladas. Além de permitir que os microrganismos tenham acesso a energia e nutrientes presentes em substratos complexos, as enzimas extracelulares são responsáveis pela decomposição e mineralização de nutrientes no solo, disponibilizando-os também para as plantas e promovendo a ciclagem de nutrientes no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Como as enzimas estão presentes em baixa concentração no solo, a sua quantificação é feita de maneira indireta, através da medida de sua atividade, e não da quantidade. Geralmente, a atividade é medida através da quebra de um substrato específico para cada enzima, em condições padronizadas de pH e temperatura (TABATABAI, 1994).

De acordo com Dick et al. (1996), as avaliações de atividades enzimáticas no solo podem ser úteis para indicar em que medida as mesmas estão desempenhando seu potencial de ciclagem de nutrientes, nitrificação, oxidação, e outros processos vitais à qualidade do solo. Há ainda a vantagem de que os métodos empregados para medir a atividade de enzimas no solo são geralmente simples, rápidos, acurados e reproduzíveis (TABATABAI, 1982).

A escolha das enzimas a serem analisadas para avaliar a qualidade do solo baseia-se na sua sensibilidade ao manejo do solo, na decomposição da matéria orgânica e na operacionalidade da análise. As enzimas mais comumente analisadas são as hidrolases ligadas ao ciclo dos principais elementos do solo como C, N, P e S. À medida que a disponibilidade de informações a respeito da atividade enzimática de enzimas

extracelulares aumenta, tem se tornado mais difícil fazer correlações com a fertilidade do solo e mais difícil ainda formular generalizações. Desta forma, ainda nos anos 50, diversos autores concluíram que não havia correlações muito estreitas entre atividade enzimática e nível de nutrientes no solo, ou entre atividade enzimática e atividade respiratória, e, portanto, a atividade enzimática não poderia fornecer um quadro completo sobre o estado biológico do solo e também não serviria como um critério para o nível de fertilidade (MELO, 1988).

De fato, parece improvável que a atividade de uma única enzima possa se constituir em um índice para avaliar a fertilidade do solo. Todavia, a avaliação da atividade enzimática pode fornecer informações importantes sobre o andamento de um determinado processo no solo.

De uma maneira geral, a atividade de enzimas extracelulares é influenciada pela umidade, temperatura, conteúdo de carbono orgânico (JORDAN et al., 1995; BERGSTROM et al., 1998). Também pode ser influenciada pela distribuição da biomassa radicular (AMADOR et al., 1997), fato pelo qual a atividade tem sido mais elevada no ambiente da rizosfera do que no solo adjacente, não sabendo se isto se deve aos microrganismos existentes, as raízes, ou a ambos (MELO, 1988). A atividade de diversas enzimas tem sido afetada pelas práticas de manejo (EKENLER; TABATABAI, 2003; SCHMITZ, 2003; MATSUOKA, 2006) e pela natureza da cobertura vegetal. Angers et al., 1993, verificou que os solos manejados com plantio direto apresentaram atividades enzimáticas mais altas, comparadas ao plantio convencional.

Outro fator que influencia a atividade enzimática é a temperatura. Ela desempenha papel chave nos ciclos biogeoquímicos, nas emissões de CO₂, e na disponibilidade de nutrientes (TIPPING et al., 1999; MOORE; DALVA, 1993; KOERSELMAN et al., 1993). Bergstrom et al. (1998) constataram que a maioria das enzimas de solo apresenta um padrão de atividade variável ao longo do ano, em função das condições climáticas. Essas variações que ocorrem no ambiente ao longo do ano afetam diferentemente cada enzima. Sabe-se, por exemplo, que a atividade da fosfatase ácida é afetada por mudanças microclimáticas e propriedades químicas e físicas do solo, enquanto enzimas que degradam lignocelulose, como glicosidases, são reguladas pela disponibilidade do substrato, o qual também é afetado pela sazonalidade (SINSABAUGH et al., 1992, 1993).

2.5.3.1 Fosfatases (EC 3.1.3)

Os microrganismos do solo desempenham papel fundamental no ciclo biogeoquímico do fósforo (P) e na sua disponibilidade para as plantas.

Os compostos P-orgânicos do solo constituem-se, principalmente, por fitinas, ácidos nucleicos, fosfolídeos e seus derivados (CASIDA, 1959) e são hidrolisados por enzimas dos grupos das fitases, nucleases e fosfolipases, podendo formar, no final do processo de hidrólise, fosfomonoésteres que são hidrolisados pelas fosfomonoesterases (PANG; KOLENKO, 1986). Essas enzimas são conhecidas genericamente pelo nome de fosfatases e catalisam a hidrólise de compostos fosfatados orgânicos com a produção de fósforo solúvel. Inúmeras fosfatases são reconhecidas por sua habilidade em hidrolisar mono ou diésteres fosfóricos (FEDER, 1973), tendo sido estudadas em vários microrganismos em seus aspectos bioquímicos e fisiológicos (HAN et al., 1987). Em geral, o termo fosfatases é utilizado para caracterizar um grupo de enzimas que apresentam capacidades de hidrolizar compostos orgânicos fosfatados, a exemplo fosfolipídios, ácidos nucleicos e inositol hexafosfatado (SYLVIA et al., 1999).

Os microrganismos e as plantas são responsáveis pela produção das fosfatases ácidas, enquanto as alcalinas parecem ser produzidas somente por microrganismos (TABATABAI, 1994). De acordo com Dick & Tabatabai (1993), os microrganismos seriam as fontes mais expressivas de fosfatases no solo, por causa da sua grande biomassa, alta atividade metabólica e curto tempo de vida, com várias gerações por ano, permitindo a produção e a liberação de quantidades elevadas de enzimas extracelulares, em comparação com as plantas. Geralmente, a atividade das fosfatases ácidas é atribuída a raízes e fungos e a atividade das fosfatases alcalinas, a fungos e bactérias (DAKORA ; PHILIPS, 2002).

A atividade da fosfatase no solo tem sido estudada em muitos trabalhos, desde a detecção feita por Rogers em 1942. A maioria desses estudos tem se preocupado com a atividade das fosfomonoesterases, principalmente a fosfatase ácida (EC 3.1.3.2), sendo esta a mais extensivamente estudada, e poucas informações são disponíveis sobre a atividade das fosfatases neutra e alcalina (3.1.3.1) nos solos (EIVAZI; TABATABAI, 1977).

Os métodos de mensuração dessas enzimas, desenvolvidos por Tabatabai & Bremner (1969), são os mais sensíveis e acurados. Esse método é baseado na estimativa de p-nitrofenol fosfato formado, por colorimetria.

Portanto, o estudo dessas enzimas é importante, pois elas são fundamentais na mineralização e ciclagem do fósforo no ambiente, promovendo reações de catalisação da hidrólise de fósforo orgânico a fósforo inorgânico.

2.5.3.2 Glicosidases (EC 3.2)

O nome geral glicosidases tem sido utilizado para descrever um grupo de enzimas que catalisam a hidrólise de diferentes glicosídeos. As glicosidases geralmente têm o nome de acordo com a substância que hidrolisam. Por exemplo, a α -glicosidase (maltase, EC 3.2.1.20) catalisa a hidrólise das α -D-glicopiranosídeos e a β -glicosidase (celobiase, EC 3.2.1.21) hidrolisa a maltose e a celobiose, respectivamente (EIVAZI; TABATABAI, 1988).

O método empregado para medir a atividade destas enzimas foi desenvolvido por Eivazi & Tabatabai, (1987). Este método é baseado na estimacão de p-nitrofenol glicosídeo, por colorimetria. Os produtos das hidrólises destas enzimas são importantes fontes de energia para os microrganismos.

As glicosidases são amplamente distribuídas na natureza, sendo detectadas em microrganismos, animais e plantas (AGRAWAL; BAHL, 1968; DEY; PRIDHAM, 1972; WALLENFELS; WEIL, 1972). Estas enzimas desempenham um papel importante na degradação de hidratos de carbono em solos. A celulose é um grande polímero que é insolúvel no solo e grande demais para entrar na célula microbiana (constituído de mais de 10.000 unidades de glicose), e deve primeiro ser quebrada por enzimas extracelulares em unidades menores, que podem ser transportadas para a célula microbiana, para posterior metabolização. A decomposição da celulose é iniciada por um grupo diversificado de enzimas complexas conhecidas como celulases. O complexo enzimático celulase geralmente contém três tipos de enzimas: uma β -1,4-endoglucanase, uma β -1,4-exoglucanase, e uma β -1,4-glicosidase. O primeiro passo para a decomposição da celulose envolve a perda da estrutura cristalina, seguido por despolimerização. As cadeias resultantes são lineares de duas ou três unidades de glicose e são chamadas celobiose e celotriose, respectivamente. Antes do carbono poder ser metabolizado pelas células para produção de energia, a celobiose e a celotriose devem ser hidrolisadas a uma única glicose, pela unidade β 1,4-glicosidase. As moléculas de glicose individuais podem então ser metabolizadas pelos diferentes microrganismos do solo como fonte de energia e carbono (SYLVIA et al., 1999).

2.5.3.3 Desidrogenases

As desidrogenases são enzimas de oxiredução e fazem parte do metabolismo das células microbianas. São enzimas essencialmente intracelulares e têm sido usadas como indicadores da atividade biológica do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Esses autores também citam que essa enzima tem correlação com o consumo de O₂ e atividade da população do solo. Então, a desidrogenase reflete a atividade oxidativa total da microbiota do solo.

Essas enzimas oxidam os compostos orgânicos através da transferência de pares de elétrons de um substrato para o NAD⁺ ou NADP⁺, formando NADH ou NADPH, respectivamente (SMITH & MCFETERS, 1997), sendo parte vital do sistema de transporte de elétrons na célula (CRANE et al., 1991). Como essas enzimas estão localizadas somente dentro de células vivas, Frankenberger Jr & Dick (1983) sugeriram que a determinação da atividade da desidrogenase está relacionada à atividade microbiana do solo.

O método para medir a atividade da desidrogenase utiliza um sal tetrazólio, pode ser empregado em solos com alto teor de matéria orgânica (CAMINA et al., 1998) e metais (MOSHER et al., 2003). A utilização do substrato sintético INT (2-*p*-Iodofenil-3-*p*-nitrofenil-5-fenil cloreto de tetrazólio) na determinação da atividade de desidrogenase é um método barato, preciso, rápido e de fácil execução (VON MERSE; SCHINNER, 1991; García-Gil et al., 2000). É também um método amplamente aceito para medir as reações de redox nas células (SMITH; MCFETERS, 1997). O INT compete com o NAD⁺ e NADP⁺ pelos elétrons. Então o INT é inserido entre a quinona e o citocromo b na cadeia de transporte de elétrons (MAURINES-CARBONEILL et al., 1998). Como o INT aceita os elétrons, ele é então reduzido a um formazam vermelho – INTF (ALTMANN, 1969; CURL; SANDBERG, 1961). Esse método colorimétrico, baseado na redução do INT, fornece uma análise acurada da atividade da desidrogenase, tanto sob condições aeróbicas, quanto anaeróbicas (BHUPATHIRAJU et al., 1999; TREVORS et al., 1984; VON MERSE; SCHINNER, 1991). Frankenberger & Dick (1983) atribuíram que a atividade da desidrogenase e da fosfatase alcalina são diretamente relacionadas às populações microbianas ativas do solo.

2.5.4 O Fósforo e o Metabolismo Microbiano

O fósforo (P) é um elemento importante a todas as formas de vida por fazer parte de biomoléculas como ácidos nucléicos e ATP. Os organismos vivos absorvem o P na forma de ortofosfato solúvel, que no caso das plantas e dos organismos do solo, esse nutriente é obtido da solução do solo onde a concentração é geralmente muito baixa (2 a 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). No entanto, solos tropicais têm geralmente baixa fertilidade, estando o P adsorvido fortemente e na maior parte na forma inorgânica e não-lábil. Para sustentar a produtividade vegetal, os agricultores utilizam fertilizantes inorgânicos, para sustentar a produção vegetal e melhorar a fertilidade do solo. No entanto, existe uma escassez de informações sobre o efeito de fertilizantes sobre a atividade microbiana do solo (PALM, 1995).

O P se apresenta como o segundo nutriente mais abundante na MOS, pois há uma alta concentração desse elemento nos microrganismos, que pode atingir 2% de matéria seca nas bactérias. 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), a mineralização e a imobilização biológica mediados pelos microrganismos. Apesar do forte envolvimento dos organismos nas transformações do P, os estudos da sua dinâmica têm sido predominantemente químicos e com pouca ênfase nos processos biológicos. Porém, a atuação de maneira direta ou indireta, dos microrganismos no ciclo do P e sua influência na capacidade de fornecimento do solo e absorção pelas raízes são bastante evidentes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Portanto, as transformações do P representam um sistema complexo envolvendo reações químicas e biológicas, como: mineralização, imobilização e absorção, processos estes que controlam a dinâmica das transformações e os fluxos do elemento no ambiente.

Siqueira et al. (2004) evidenciaram a importância desse “P-biológico” do solo, devido à sua rápida reciclagem, e calcularam que a biomassa microbiana recicla cerca de 70 vezes mais P, por ano, do que a fitomassa.

A maioria dos estudos que analisam limitações nutricionais sobre a atividade microbiana tem sido feita em solos temperados. Nessas regiões, o N tem sido encontrado como o principal fator limitante, depois do C (NORDGREN, 1992; JOERGENSEN; SCHEU, 1999). Poucos estudos, que analisaram limitações de

nutrientes em solos intemperizados como os Latossolos, concluíram que o P é o nutriente mais limitante, o alto conteúdo de sesquióxidos de Fe e Al existentes nos Latossolos, o que pode causar a adsorção do P (CLEVELAND et al., 2002; ILSTEDT et al., 2003; ILSTEDT; SINGH, 2005), tornando-se menos disponível às plantas. Estudos que mostram que a disponibilidade de P em solos tropicais limitam a produção vegetal confirmam isso (BATIONO; BUERKERT, 2001; SANCHEZ, 2002). Ilstedt & Singh (2005) encontraram um padrão mais complexo em um Argissolo Vermelho, onde a taxa de respiração foi mais limitada por P.

Acreditava-se que o P não limitava o crescimento e a respiração microbiana do solo em ecossistemas terrestres. Contudo, trabalhos demonstram que, em Latossolos altamente intemperizados, a decomposição da matéria orgânica é fortemente condicionada pela disponibilidade do P, sugerindo assim que o P tem implicação direta na ciclagem de C, incluindo sua potencial resposta no incremento de CO₂ atmosférico (CLEVELAND et al., 2002).

Gnankambary et al. (2008) mostraram que pequenas doses de P aumentaram a taxa de respiração, mostrando a limitação desse nutriente para o crescimento microbiano, quando outros nutrientes são adicionados em excesso. Os resultados do trabalho desses autores demonstraram também a associação que ocorre com os teores de C no solo, quando da adição de P e C, e indicaram que a respiração microbiana foi limitada devido à limitação de P, que foi altamente fixado, porém isso ocorreu quando a quantidade de carbono solúvel foi baixa no sistema.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAWAL, K. M. L.; BAHL, O. P. Glycosidases of *Phaseolus vulgaris*. II. Isolation and general properties. **Journal of Biological Chemistry.**, Bethesda, v. 243, p. 103-111, 1968.
- ALTMANN, F.P. The use of eight different tetrazolium salts for a quantitative study of pentose shunt dehydrogenation. **Histochemistry and Cell Biology**, Berlin, v. 19, p. 363-374, 1969.
- AMADOR, J.A.; GLUCKSMAN, A.M.; LYONS, J.B.; GORRES, J.H. Spatial distribution of soil phosphatase activity within a riparian forest. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 162, p. 808-825, 1997.
- ANDERSON, P.E.; DOMSH, K.H. Quantification of bacterial and fungal contributions to soil respiration. **Archives of Microbiology**, Berlin, v. 93, p. 113-127, 1973.
- ANGERS, D.A.; BISSONNETTE, N.; LÉGÈRE, A.; SAMSON, N. Microbial and biochemical changes induced by rotation and tillage in a soil under barley production. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 73, p. 39-50, 1993.
- AON, M.A.; CABELLO, M.N.; SARENA, D.E.; COLANERI, A.C.; FRANCO, M.G.; BURGOS, J.L.; CORTASSA, S.I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. **Applied Soil Ecology.**, Amsterdam, v.18, p. 239-254, 2001.
- BALOTA, E.L.; COLOZZI FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; DICK, R.P. Long-term and crop rotation effect on microbial biomass and C and N mineralization in a Brazilian Oxisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 77, p. 137-145, 2004a.
- BALOTA, E.L.; COLOZZI FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solo sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, 22: 641-649, 1998.
- BARETTA, D.; SANTOS, J.C.P.; MANFROI, A.F.; TASCA, F.A.; DOMINGOS, M.D.; KLAUBERG-FILHO, O.; MAFRA, A.L. Diversidade da fauna edáfica em mata nativa, floresta de pinus e campo nativo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. **Anais...**, Ribeirão Preto; SBCE/UNESP, 2003, p. 1-4, CD ROM.

BARJA, I.; NÚÑEZ, L. Microcalorimetric measurements of the influence of glucose concentration on microbial activity in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v.31, p. 441–447, 1999.

BATIONO, A., BUERKERT, A. Soil organic carbon management for sustainable land use in Sudano-Sahelian West Africa. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, Holanda, v. 61, p. 131–142, 2001.

BAYER C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e Função da Matéria Orgânica. In: SANTOS, G.A. et al. (Ed.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2 ed., Porto Alegre: Metropole, 2 ed., 2008, p. 7-16.

BERGSTROM, D.W.; MONREAL, C.M.; KING, D.J. Sensitive of soil enzymes activities to conservative practices. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 62, p. 1286-1294, 1998.

BHUPATHIRAJU, V.K.; HERNANDEZ, M.; LANDFEAR, D.; ALVAREZ-COHEN, L. Application of a tetrazolium dye as an indicator of viability in anaerobic bacteria. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 37, p. 231– 243, 1999.

BURNS, R.G. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 14, p. 423-427, 1982.

BURNS, R.G. **Soil Enzymes**. London: Academic Press, 1978, 380 p.

CAMINA, F.; TRASAR-CEPEDA, C.; GIL-SOTRES, F.; LEIROS, C. Measurement of dehydrogenase activity in acid soils rich in organic matter. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 30, p. 1005– 1011, 1998.

CASIDA JR., L.E. Phosphatase activity of some common soil fungi. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 87, p. 305-310, 1959.

CATTELAN, A.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 14, p. 125-132, 1990.

CHAER, G.M. **Modelos para determinação de índice de qualidade do solo baseado em indicadores físicos, químicos e microbiológicos**. 2001. 89 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

CLEVELAND, C.C., TOWNSEND, A.R.; SCHMIDT, S.K. Phosphorus limitation of microbial processes in moist tropical forests: evidence from short-term laboratory incubations and field studies. **Ecosystems**, New York, v. 5, p. 680–691, 2002.

CMMAD - Comissão Mundial sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento das Nações Unidas. **Nosso futuro comum**, 3. ed., Rio de Janeiro: Fundação Getúlio Vargas, 1991.

CORREIA, A. **Prejuízos com perdas de solos nas áreas agrícolas**. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 200-?. Disponível em: <[http://www.cnps.embrapa.br/search/plancts/coluna14/coluna 14.html](http://www.cnps.embrapa.br/search/plancts/coluna14/coluna%2014.html)>. Acesso em: 1 fev. 2009.

CORREIA, M.E.F.; ANDRADE, A.G. Formação da serrapilheira e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G.A. et al. (Ed.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Metropole, 2 ed., 2008, p. 137-154.

CRANE, F.L., SUN, I.L., BARR, R.; LOW, H. Electron and proton transport across the plasma membrane. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, New York, v. 23, p. 773– 803, 1991.

CURL JR., H.; SANDBERG, J. The measurement of dehydrogenase activity in marine organisms. **Journal of Marine Research**, New Haven, v.19, p. 123–138, 1961.

DAKORA, F.D.; PHILLIPS, D.A. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. **Plant and Soil**, The Hague, Holanda, v. 245, p. 35-47, 2002.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J.G.M. C, N e P na biomassa microbiana do solo. In: SANTOS, G.A. et al. (Ed.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Metropole, 2 ed., 2008, p. 389-412.

DEY, P. M.; PRIDHAM, J. B. Biochemistry of α -galactosidases. In: MEISTER, A. (Ed.) **Advances in Enzymology**, New York: Wiley, 1972, v. 36, p. 91-130.

DICK, R.P. Soil enzymes activities as indicators of soil quality. **Soil Science Society of America Journal**, (Special Publication), Madison, v. 35, p. 107-124, 1994.

DICK, W.A.; TABATABAI, M.A. Significance and potential uses of soil enzymes. In: METTING JUNIOR, F.B. (Ed.). **Soil microbial ecology applications in agricultural and environmental management**. New York: M. Dekker, 1996, p.95-127.

DILLY, O.; NANNIPIERI, P. Response of ATP content, respiration rate and enzyme activities in an arable and a forest soil to nutrient additions, **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 34, p. 64–72, 2001.

DORAN, J.W.; PARKINSON, T.B. Defining and assessing soil quality. **Soil Science Society of America Journal**, (Special Publication), Madison, v. 35, p. 3-21, 1994.

DORAN, J.W.; WILHELM, W.W.; POWER, J.F. Crop residue removal and soil productivity with no-till corn, sorghum and soybean. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 48, p. 640-645, 1984.

DROBNIK, J. Primary oxidation of organic matter in the soil. I. The form of respiration curves with glucose as the substrate. **Plant and Soil**, The Hague, Holanda, v. 12, p. 199–211, 1960.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M.A. Phosphatases in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 9, p. 167-172, 1977.

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

FEDER, J. The phosphatases. In: GRIFITH, E.J. et al. (Ed.). **Environmental phosphorus handbook**. New York: John Wiley, 1973, p. 475-507

FERREIRA, A.S.; CAMARGO, F.A.O.; VIDOR, C. Utilização de Microondas para Estimar a Biomassa Microbiana do Solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 23, p. 991-996, 1999.

FONSECA, S.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; COSTA, L.M.; LEAL, P.G.L.; NEVES, J.C.L. Alterações em um Latossolo sob eucalipto, mata natural e pastagem: I- Propriedades físicas e químicas. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 17, p. 271-288, 1993.

FONSECA, V.M. **Cerrado brasileiro: a biodiversidade ameaçada**. 2007. Disponível em: < <http://destaquein.sacrahome.net/node/176>>. Acesso em 21 jan. 2009.

FRANKENBERGER JR., W.T.; DICK, W.A. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 47, p. 945-951, 1983.

FRIEDEL, J. K.; MUNCH, J. C.; FISCHER, W. R. Soil microbial properties and the assessment of available soil organic matter in a haplic luvisol after several years of different cultivation and crop rotation. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 28, p. 479-488, 1996.

FRIGHETTO, R.T.S. Análise da biomassa microbiana em carbono: método de fumigação extração. In: FRIGHETTO, R.T.S.; VALARINI, P.J. (Ed.). **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p.157-166, 2000. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 21).

GARCIA-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 and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 32, p. 1907-1913, 2000.

GNANKAMBARY, Z.; ILSTEDT, U.; NYBERG, G.; HIEN, V.; MALMER, A. Nitrogen and phosphorus limitation of soil microbial respiration in two tropical agroforestry parklands in the south-Sudanese zone of Burkina Faso: The effects of canopy and fertilization. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 40, p. 350-359, 2008.

GOEDERT, W.J. Uso e manejo dos recursos naturais do Cerrado: solo e clima. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 5., 1979, Brasília. **Anais...** Brasília: Editerra, 1979, p. 475-498.

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 soil. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 74, p. 367-385, 1994.

GRISI, B.M. Temperature increase and its effect on microbial biomass and activity of tropical and temperate soils. **Microbiology**, New York, v.28, p. 5-10, 1996. Separata.

HAN, S.W.; NAHAS, E.; ROSSI, A. Regulation of synthesis and secretion of acid and alkaline phosphatases in *Neurospora crassa*. **Current Genetics**, New York, v. 11, p. 521-527, 1987.

ILSTEDT, U.; SINGH, S. Nitrogen and phosphorus limitations of microbial respiration in a tropical phosphorus-fixing acrisol (ultisol) compared with organic compost. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 37, p. 1407-1410, 2005.

ILSTEDT, U., GIESLER, R., NORDGREN, A.; MALMER, A. Changes in soil chemical and microbial properties after a wildfire in a tropical rainforest in Sabah, Malaysia. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 35, p. 1071–1078, 2003.

JOERGENSEN, R.G.; SCHEU, S. Response of soil microorganisms to the addition of carbon, nitrogen and phosphorus in a forest Rendzina, **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 31, p. 859–866, 1999.

JORDAN, D.; KREMER, R.J.; BERGFELD, W.A.; KIM, K.Y.; CACEIO, V.N. Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 19, p. 297-302, 1995.

JUVENAL, T.L.; MATTOS, R.L.G. O setor florestal no Brasil e a importância do reflorestamento. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, v. 16, p. 3-30, 2002.

KENNEDY, A.C.; SMITH, K.L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant and Soil**, The Hague, Holanda, v.170, p. 75-86, 1995.

KLOSE, S.; MOORE, J.M.; TABATABAI, M.A. Arylsulfatase activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 29, p. 46–54, 1999.

KLUTHCOUSKI, J.; STONE, C.F.; AIDAR, H. **Integração lavoura-pecuária**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003, 570 p.

KOERSELMAN, W.; VAN KERKHOVEN, M.B.; VERHOEVEN, J.T.A. Release of inorganic N, P and K in peat soils, effects of temperature, water, chemistry and water level. **Biogeochemistry**, Dordrecht, Holanda, v. 20, p. 63-81, 1993.

KUONO, K.; TUCHIYA, Y.; ANDO, T. Measurement of microbial biomass phosphorus by anion Exchange membrane method. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 27, p. 1353-1357, 1995.

LANNA, A.C. **Impacto ambiental de tecnologias, indicadores de sustentabilidade e metodologias de aferição**: uma revisão. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002, p.31. (Documentos/Embrapa Arroz e Feijão, 144).

LIN, Q.; BROOKES, P.C. An evaluation of the substrate-induced respiration method. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 31, p. 1969-1983, 2000.

LLOYD, J.; TAYLOR, J.A. On the temperature dependence of soil respiration. **Functional Ecology**, Oxford, Inglaterra, v. 8, p. 315-323, 1994.

MATSUOKA, N. Monitoring periglacial processes: Towards construction of a global network. **Geomorphology**, Amsterdam, v. 80, p. 20-31, 2006.

MAURINES-CARBONEILL, C.; PERNELLE, J.; MORIN, L.; SACHON, G.; LEBLON, G. Prevalence of the INT test response as an indicator of ETS activity in monitoring heterotrophic aerobic bacterial population in activated sludges. **Water Research**, New York, v. 32, p. 1213-1221, 1998.

MEENTEMEYER, V. Macroclimate and lignin control of litter decomposition rates. **Ecology**, Tempe, Arizona, v. 59, p. 465-472, 1978.

MELO, J.T.; RESCK, D.V.S. **Retorno, ao solo, de nutrientes de serrapilheira de pinus no cerrado do Distrito Federal.**, Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 18 p., 2002, 18p. Boletim de pesquisa e desenvolvimento Embrapa Cerrados.

MELO, W.J. Enzimas no solo. In: MONIZ, A.C. et al. (Ed.). **A responsabilidade social da Ciência do Solo.** Campinas: SBCS, 1988, p. 365-378.

MOORE, T.R.; DALVA, M. The influence of temperature and water table position on carbon dioxide and methane emissions from laboratory columns of peatland soils. **Journal of Soil Science Society of America**, Madison, v. 44, p. 651-664, 1993.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo.** Lavras:UFLA, 2006, 625 p.

MOSHER, J.J., LEVISON, B.S.; JOHNSTON, C.G. A simplified dehydrogenase enzyme assay in contaminated sediment using 2-(p-iodophenyl)-3-(p-nitrophenyl)-5-phenyl tetrazolium chloride. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 53, p. 411-415, 2003.

MUZILLI, O. Gestão da fertilidade do solo em sistema de plantio direto. In: _____. **Direto na Qualidade**, Boletim de divulgação, Londrina: IAPAR, n.3, set/out 2001.

NANNIPIERI, P.; GREGO, S.; CECCANTI, B. Ecological significance of the biological activity in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 6, p. 293-355, 1990.

NANNIPIERI, P.; JOHNSON, R.L.; PAUL, E.A. Criteria for measurement of microbial growth and activity in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 10, p. 223-229, 1978.

NANNIPIERI, P.; SASTRE, I.; LANDI, L.; LOBO, M.C.; PIETRAMELLARA, G. Determination of extracellular neutral phosphomonoesterase activity in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 28, p. 107-112, 1996b.

NANNIPIERI, P.; SEQUI, P.; FUSI, P. Humus and enzyme activity. In: PICCOLO, A. (Ed.) **Humic substances in enzyme activity**. Elsevier, Amsterdam, p. 293-328, 1996b.

NORDGREN, A. A method for determining microbially available N and P in an organic soil, **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, 13: 195–199, 1992.

PALM, C.A. Contribution of agroforestry trees to nutrient requirements of intercropped plants. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, Holanda, v. 30, p.105–124, 1995.

PANG, P.C.K.; KOLENKO, H. Phosphomonoesterase activity in forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 18, p. 35-40, 1986.

PARTON, W.J.; WOOMER, P.L. & MARTIN, A. Modeling soil organic matter dynamics and plant productivity in tropical ecosystems. In: WOOMER, P.L.; SWIFT, M.J. (Ed.). **The biological management of tropical soil fertility**. Chichester : John Wiley & Sons, 1994, p.171-188.

PAUL, E.A. **Soil microbiology, ecology, and biochemistry**. 3th. ed., New York: Academic Press, 2007, 516p.

PEIXOTO, R.T.G. Manejo orgânico da fertilidade do solo no sistema plantio direto. In: PEIXOTO et al. (Ed.). **Plantio direto: o caminho para a agricultura sustentável**. Ponta Grossa: IAPAR, PRP/PG, 1997, 186 p.

POGGIANI, F.; MONTEIRO JÚNIOR, E.S. Deposição de folhede e retorno de nutrientes ao solo numa floresta estacional semidecídua, em Piracicaba (Estado de São Paulo). In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6.,1990, Campos do Jordão. **Anais...** São Paulo: SBS, 1990, p. 596-602.

POST, W.M.; PENG, T.H.; EMANUEL, W.R.; KING, A.W.; DALE, V.H.; DEANGELIS, D.I. The global carbon cycle. **American Scientist**, New Haven, v. 78, p. 310-326, 1990.

POWLSON, D.S.; BROOKES, P.C.; CHRISTENSEN, B.J. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw decomposition. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 19, p. 159-164, 1987.

RAICH, J.W.; SCHELESINGER, W.H. The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relation to vegetation and climate, **Tellus**, Stockholm, v. 44, p. 81–99, 1992.

RAMALHO FILHO, A.; BEEK, K.J. **Sistema da avaliação da aptidão agrícola das terras**. 3 ed., Rio de Janeiro: Embrapa – CEPS, 1994, 65p.

RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P. (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA – CPAC, 1998, p.89-166

ROGERS, H.T. Dephosphorylation of organic phosphorus compounds by soil catalysts. **Journal of Soil Science Society of America**, Madison, v. 54, p. 439–444, 1942.

SANCHEZ, P.A. Soil fertility and hunger in Africa, **Science**, Washington, v. 295, p. 2019–2020, 2002.

SANTOS, A.G.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A.O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo – ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2 ed., Porto Alegre: Metrópole, 2008, 654p.

SCHLESINGER, W.H. Changes in soil carbon storage and associated properties with disturbance and recovery. In: TRABALKA, J.R. & REICHLER, D.E. (Ed.). **The change in carbon cycle: a global analysis**. Springer-Verlag, New York, p. 194-220, 1986.

SCHMITZ, J.A.K. **Indicadores biológicos de qualidade do solo**. Tese (Doutorado). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003, 233p.

SCOTT-DENTON, L.E.; ROSENSTIEL, T.N.; MONSON, R.K. Differential controls by climate and substrate over the heterotrophic and rhizospheric components of soil respiration. **Global Change Biology**, Oxford, v. 12, p. 205–216, 2006.

SCOTT-DENTON, L.E.; SPARKS, K.L.; MONSON, R.K. Spatial and temporal controls of soil respiration rate in a high-elevation, subalpine forest. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 35, p. 525–534, 2003.

SILVA, J.E.; RESK, D.V.S. Matéria orgânica do solo. In: VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos cerrados**. Embrapa Cerrados. Planaltina-DF, 1997, 524p.

SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. IAC, SP, 2007, 312p.

SINGH, J.S.; GUPTA, S.R. Plant decomposition and soil respiration in terrestrial ecosystems. **Botanical Review**, Bronx, NY, v. 43, p. 449-528, 1977.

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

SINSABAUGH, R.L.; ANTIBUS, R.K.; LINKINS, A.E.; MCCLAUGHERTY, C.A.; RAYBURN, L.; WEILAND, T. Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity. **Ecology**, Tempe, Arizona, 74: 1586-1593, 1993.

SINSABAUGH, R.L.; ANTIBUS, R.K.; LINKINS, A.E.; RAYBURN, L.; REPERT, D.; WEILAND, T. Wood decomposition in a first order watershed: mass loss as a function of exoenzyme activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 24, p. 743-749, 1992.

SKUJINS, J. Extracellular enzymes in soil. **Critical Reviews in Microbiology**, Cleveland, Ohio, v. 4, p. 383-421, 1976.

SMITH, J.J.; MCFETERS, G.A. Mechanisms of INT (2-(4-iodo-phenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl tetrazolium chloride) and CTC (5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride) reduction in *Escherichia coli* K-12. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 29, p. 161–175. 1997.

STEVENSON, F.J. **Cycles of soil**: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. New York: John Wiley, 1986, 380p.

STOTZKY, G. Microbial respiration. In: BLACK, C.A. (Ed). **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1965. cap.11. p.1551-1572.

SWIFT, M.J.; HEAL, O.W.; ANDERSON, J.M. **Decomposition in terrestrial ecosystems**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1979, 372p.

SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. **Principles and applications of soil microbiology**. Prentice Hall, 1999, 550p.

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

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2: Chemical and microbiological properties, SSSA Publ., Madison: ASA, 1982, p. 539-580.

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: WEAVER, R.W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.J. (Ed.). **Methods of soil analysis**: microbiological and biochemical properties. 2., Madison: Soil Science Society of America, 1994. p.775-883

THENG, B.K.G.; TATE, K.R.; SOLLINS, P. Constituents of organic matter in temperate and tropical soils. In: COLEMAN, D.C. et al. (Ed.). **Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems**. Honolulu: NifTAL Project, 1989, p. 5-32.

TIPPING, E.; WOOF, C.; RIGG, E.; HARRISON, A.F.; INESON, P.; TAYLOR, K.; BENHAM, D.; POSKITT, J.; ROWLAND, A.P.; BOL, R.; HARKNESS, D.D. Climatic influences on the leaching of dissolved organic matter from upland UK moorland soils, investigated by a field manipulation experiment. **Environment International**, New York, v. 25, p. 83–95, 1999.

TREVORS, J.T. Effect of substrate concentration, inorganic nitrogen, O₂ concentration, temperature and pH on dehydrogenase activity in soil. **Plant and Soil**, The Hague, Holanda, v. 77, p. 285– 293, 1984.

VILELA, L.; SOUSA de, D.M.G. & MARTHA JUNIOR, G.B. **Avaliação da viabilidade agrônômica e econômica da adubação de manutenção em pastagem de**

***Brachiaria decumbens* na região do cerrado.** Planaltina-DF, Embrapa Cerrados, 2002, 68p.

VON MERSE, W., SCHINNER, F. An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with idonitrotetrazolium chloride. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 11, p. 216-220, 1991.

WALLENFELS, K.; WEIL, R. β -Galactosidase. In: BOYER, PD. (Ed.). **The Enzymes**. 3. ed., New York: Academic Press., v. 7, p. 617-663, 1972.

WILHELM, W.W.; DORAN, J.W. & POWER, J.F. Corn and soybean yield responses to crop residues management under no-tillage productions systems. **Agronomy Journal**, Madison, v. 78, p. 184-189, 1986.

ZILLER, S.R. **A estepe gramíneo-lenhosa no segundo planalto do Paraná:** diagnóstico ambiental com enfoque à contaminação biológica. 2000, 268p. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

CAPÍTULO 2

ATIVIDADE MICROBIANA E RESPOSTAS METABÓLICAS À ADIÇÃO DE FÓSFORO E GLICOSE, EM LATOSSOLO FASE CERRADO E SOB DIFERENTES USOS

RESUMO

VINHAL-FREITAS, ISABEL CRISTINA. Atividade microbiana e respostas metabólicas à adição de fósforo e glicose, em latossolo fase cerrado e sob diferentes usos. In: VINHAL-FREITAS, I.C. **Bioensaios com fósforo e indicadores químicos, microbianos e bioquímicos do solo, em áreas sob cerrado, pinus e sistema plantio direto**. 2009. 75p. Uberlândia: UFU, 2009. p. 34-52. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Solos) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.³

A atividade microbiana no solo tem grande importância na regulação dos processos de transformação de carbono e nutrientes, a exemplo do fósforo. No entanto, a atividade da microbiota é fortemente ligada a práticas agrícolas de uso do solo. Este trabalho teve como objetivo comparar três sistemas de uso do solo, em relação à resposta da atividade microbiana e metabólica, quando da adição de fósforo e glicose em Latossolo fase Cerrado. Os sistemas de uso do solo foram: área de cerrado nativo (CE), floresta de pinus com árvores de 32 anos (FP) e plantio direto (PD) com 11 anos. As amostras de solos, coletadas na profundidade de 0-10 cm, foram avaliadas quanto ao C liberado (C-CO₂) pela atividade microbiana; C orgânico total (COT); carbono da biomassa microbiana (CBM); glicose total (GT) e rendimento metabólico à adição de glicose e P no solo. Os resultados mostraram que a adição de doses crescentes de P aumentou a atividade respiratória dos solos dos três sistemas de uso. A adição de P aumentou a atividade microbiana (atividade respiratória, com incremento em biomassa microbiana) e rendimento metabólico (eficiência de utilização da glicose), principalmente se adicionado junto com uma fonte de carbono (glicose). O uso de testes de incubação do solo com adição de nutrientes pode ser usado para caracterizar o potencial de resposta metabólica de solos com características de uso diferentes, sendo úteis no conhecimento funcional dos solos da região do cerrado.

Termos de indexação: Cerrado, Floresta de pinus, Plantio direto, Respiração do solo, Carbono orgânico, Glicose.

³ Orientador: Gilberto Fernandes Corrêa – UFU (Orientador) e Adão de Siqueira Ferreira – UFU.

ABSTRACT

VINHAL-FREITAS, ISABEL CRISTINA. Microbial activity and metabolic responses to phosphorus and glucose addition in acrustox under different uses. In: VINHAL-FREITAS, I.C. **Phosphorus bioassays and chemical, microbial and biochemical indicators of soil in areas under savannah, pinus forest and no-tillage.** 2009. 75p. Uberlândia: UFU, 2009. p. 35-52. Dissertation (Master Program Agronomy/Soil Science) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia.⁴

The microbial activity in soil is very important in regulating the processes of transformation of carbon and nutrients, such as phosphorus. However, the activity of the microbiota is strongly linked to agricultural practices of land use. This study aimed to compare three systems of land use on the response of microbial and metabolic activity when the addition of phosphorus and glucose in typic Acrustox of savannah. The systems of land use were: area of savannah (CE), pine forest with trees of 32 years (FP) and no-tillage (PD) with 11 years. Samples of soil, collected at depth of 0-10 cm, were assessed for carbon released (C-CO₂) by microbial activity, total organic carbon (COT), microbial biomass carbon (CBM), total glucose (GT) and metabolic yield of the addition of glucose and P in soil. The results showed that the addition of six doses of P increased the respiratory activity of the three land use systems. The addition of P increased microbial activity (respiratory activity, with an increase in microbial biomass) and metabolic yield (efficiency of utilization of glucose), especially when added together with a carbon source (glucose). The use of tests of incubation of soil with the addition of nutrients can be used to characterize the potential for metabolic response of soils with different characteristics, use, and useful in the functional knowledge of soils from savannah vegetation.

Index terms: Savannah vegetation, Pine forest, No-tillage, Soil respiration, Organic carbon, Glucose.

⁴ Guidance Committee: Gilberto Fernandes Corrêa – UFU (Major Professor) and Adão de Siqueira Ferreira – UFU.

1 INTRODUÇÃO

A microbiota é um dos principais componentes ativos do solo e exerce importante regulação nos processos de ciclagem de nutrientes, transformação dos resíduos orgânicos e estoque de nutrientes no solo, a exemplo de nitrogênio e fósforo (PAUL, 2007). No entanto, a atividade da microbiota pode ser modificada em decorrência dos diferentes sistemas de uso e manejo dos ambientes agrícolas. Além disso, a atividade pode ser alterada significativamente, quando os atributos físicos e químicos do solo são modificados em consequência de práticas agrícolas, como a calagem e a adubação (SYLVIA et al., 1999; PAUL, 2007).

Atualmente, a resposta da microbiota tem sido utilizada como indicação de medida do estado funcional dos solos, sob diferentes sistemas de uso. Entre as formas de avaliação da resposta, a atividade respiratória, estimada pela liberação de CO₂, tem se destacado em vários estudos, em parte pela facilidade de ensaios e pela rápida resposta dos microrganismos à adição de nutrientes no solo (CLEVELAND et al., 2002; ILSTEDT et al., 2006; BODDY et al., 2007; WANG et al., 2008). Em ecossistemas tropicais e subtropicais, a adição de fósforo (P), particularmente, tem sido preferida em condições de ensaios, devido às sólidas evidências de sua participação na regulação da atividade da microbiota do solo (ILSTEDT et al., 2003; ILSTEDT; SINGH, 2005; ILSTEDT et al., 2006). Contudo, a atividade respiratória dos solos agrícolas tem sido associada também ao fluxo de energia e à capacidade de estoque de carbono nos ecossistemas terrestres, em relação à crescente preocupação com o aquecimento global (SMITH et al., 2000; EDWARD et al., 2007; QIU et al., 2007; MONDINI et al., 2007; PENG et al., 2009).

Em muitos ecossistemas terrestres, a produção de biomassa das plantas e a transformação do carbono orgânico no solo são reguladas pela disponibilidade de nutrientes em solução, a exemplo do fósforo. Mesmo quando o conteúdo de P total em solos é alto, a concentração de P disponível na solução é muito baixa em solos oxidicos, em comparação ao requerimento nutricional de plantas e organismos do solo (ILSTEDT et al., 2006; MARSCHNER et al., 2007). A baixa disponibilidade de P, em solos originados de material de origem pobre e altamente intemperizados, é devido à tendência de adsorção do ânion fosfato em compostos de óxidos de Al e Fe (SANCHEZ, 2002; ILSTEDT; SINGH, 2005), diminuindo, assim, a concentração do nutriente na fração lábil (ILSTEDT et al., 2003; ILSTEDT; SINGH, 2005). Assim, o

uso de ensaios com adição de P inorgânico possibilita obter informações a respeito da capacidade de respostas da microbiota, sob condições de uso e manejo dos solos, em curto período de tempo.

Os solos sob cerrado têm sido utilizados para as mais variadas atividades agrosilvopastoris, a exemplo de produção de grãos, agropecuária e cultivos florestais. Particularmente, os Latossolos representam a maior parte dos solos da região, sendo caracterizados como muito intemperizados, profundos, porosos e com teor de argila superior a 15%. Eles também podem ser, de modo geral, caracterizados por apresentarem pequena reserva de nutrientes às plantas. Em função de suas características, os Latossolos apresentam baixa capacidade de troca catiônica e alta de adsorção aniônica, principalmente fosfato. Em função disso, a fração de P lábil no solo é caracterizada como abaixo do requerimento nutricional das plantas, sendo o nutriente considerado o principal fator limitante à produção e às transformações biológicas no solo. No Brasil, entretanto, poucos são os estudos relacionados à importância do fósforo na microbiota (FERREIRA et al., 2008), necessitando, assim, de mais informações a respeito deste componente no solo.

Este trabalho teve como objetivo comparar três sistemas de uso do solo em relação à resposta da atividade microbiana e metabólica, quando da adição de fósforo e glicose em amostras superficiais (0-10 cm), em Latossolo fase Cerrado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada utilizando-se amostras de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, localizado na Fazenda Floresta do Lobo, no município de Uberlândia-MG. A fazenda está localizada a 18°58' de latitude S e 48°12' de longitude W, com altitude de aproximadamente 950 m, e relevo plano. O clima local é do tipo Cwa, apresentando inverno seco e verão quente e chuvoso, segundo a classificação de Köppen. A temperatura média anual é em torno de 23 °C, e precipitação média anual de 1652,9 mm (medidos entre 1976 a 2008, conforme Figura 1).

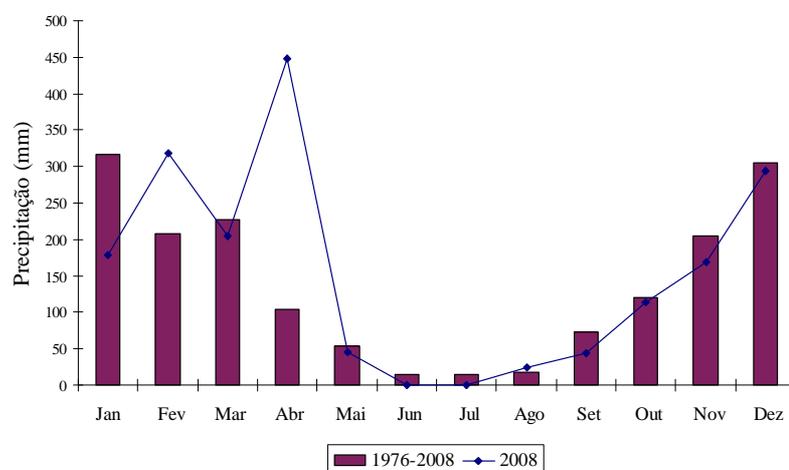


Figura 1. Precipitação média mensal de 1976 a 2008 e precipitação total no ano de 2008, medidas na estação meteorológica da fazenda Floresta do Lobo, Uberlândia, MG.

As amostras de solos foram coletadas em três áreas sob diferentes usos, e três épocas de amostragem do solo. A primeira área encontra-se sob cerrado (CE), a segunda sob maciço florestal de pinus (*Pinus caribaea* vr. *honduriensis*) (FP), com árvores de 32 anos e espessa camada superficial de acículas na serrapilheira, e a terceira sob plantio direto (PD) com uso intensivo do solo, utilizando sistema de rotação de culturas (soja, sorgo, milho) e pousio. A área sob PD vem sendo manejada em sistema de cultivo por 11 anos, sendo as adubações realizadas conforme as necessidades de produção de cada cultura. As coletas de solo foram realizadas no período chuvoso, em janeiro e dezembro de 2008, e no período seco, em junho de 2008.

As coletas de solo foram realizadas numa área de 600 cm² (30 x 20 cm), a 10 cm de profundidade. Cada amostra foi composta de quatro sub-amostras coletadas aleatoriamente dentro de cada área selecionada. As amostras foram passadas em peneira

com malha de 3,35 mm. Uma porção da amostra de solo foi seca ao ar e triturada em cadinho de porcelana, visando a determinação dos atributos químicos do solo (Tabela 1), conforme Tedesco et al. (1995), e físicos do solo (Tabela 1), sendo que as análises se deram conforme descrito pela Embrapa (1997). O restante das amostras de solo, em condições de umidade natural, foi armazenado a 4°C para serem posteriormente utilizadas nos bioensaios.

Os experimentos de avaliação da respiração microbiana do solo, em resposta à adição de P, foram instalados em frascos de vidro herméticos, com capacidade de ½ L. Como fonte de P, utilizou-se solução de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Essa solução foi adicionada a 100g de solo úmido, de modo a obter-se as concentrações correspondentes a 0, 100, 200, 300, 400 e 600 mg de P kg^{-1} de solo seco, com duas repetições de laboratório. O teor de umidade foi ajustado, em todos os tratamentos, a 24% de umidade. A atividade respiratória foi estimada pela quantidade de CO_2 liberado em 17 dias de incubação, conforme Stotzky (1965).

Na avaliação da respiração microbiana, copos de plástico descartáveis (40 mL) contendo 10 mL de NaOH (1 mol L^{-1}), foram acondicionadas dentro de cada frasco de incubação para a captura de CO_2 . Os frascos foram hermeticamente fechados e mantidos em temperatura ambiente. A determinação do CO_2 liberado foi realizada no terceiro, décimo e décimo sétimo dias após a instalação do experimento. Após cada período de incubação, foram retirados os copos plásticos dos frascos e nestes colocados 5 mL de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1 mol L^{-1}) e três gotas de fenolftaleína (1% em solução de etanol, 50%), sendo o excesso de NaOH titulado com HCl (0,5 mol L^{-1}). Novos copos plásticos com NaOH foram colocados nos frascos de vidro para subseqüentes períodos de incubação. A amostra do branco foi constituída em frasco sem a porção de solo. A quantidade de carbono liberada foi estimada em mg de C- CO_2 kg^{-1} de solo seco. A temperatura ambiente, durante a realização do experimento de atividade microbiana, variou de 21,5 a 24 °C, com temperatura média de 23 °C.

O carbono orgânico total (COT) do solo foi determinado pela oxidação da matéria orgânica com $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ em meio ácido e o excesso de dicromato foi titulado com $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ (YEOMANS; BREMNER, 1988).

A determinação do carbono da biomassa microbiana (CBM) no solo foi estimado pelo método de fumigação-extração, descrito por Vance et al. (1987), utilizando-se 20g de solo úmido em amostra não-fumigada e fumigada com clorofórmio, por 24 horas (25 °C). A extração do C foi realizada com 40 mL de solução

de K_2SO_4 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$), e CBM calculado pela equação: $CBM = C_{ext} \times 2,66$ (Vance et al., 1987), onde C_{ext} é a diferença entre o carbono extraído da amostra fumigada e a não-fumigada.

Tabela 1. Caracterização física, química e biológica do solo, sob três condições de uso, na profundidade de 0-10 cm

| Caracterização | Uso do Solo ⁽¹⁾ | | |
|--|----------------------------|-------|--------|
| | CE | FP | PD |
| Areia (g kg^{-1}) | 175 | 177 | 167 |
| Silte (g kg^{-1}) | 125 | 92 | 185 |
| Argila (g kg^{-1}) | 700 | 731 | 648 |
| Umidade ⁽¹⁾ (%) | 16,0 | 20,0 | 19,5 |
| Carbono orgânico total (g kg^{-1} de solo) | 24,4 | 17,0 | 40,7 |
| N total (g kg^{-1}) | 1,23 | 0,81 | 2,03 |
| pH (água) | 4,7 | 4,5 | 6,7 |
| P (resina) (mg dm^{-3}) | 1,70 | 1,50 | 39,30 |
| K^+ (mg dm^{-3}) | 30,00 | 10,00 | 328,00 |
| Ca^{2+} ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) | 0,10 | 0,10 | 4,90 |
| Mg^{2+} ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) | 0,10 | 0,10 | 1,50 |
| Al^{3+} ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) | 0,90 | 0,50 | 0,00 |
| H + Al ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) | 3,40 | 3,10 | 1,50 |

⁽¹⁾ Solo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico. CE = cerrado; FP: plantação de Pinus; PD = Plantio Direto. ⁽²⁾ Umidade atual do solo, determinada no mesmo dia da coleta. ⁽³⁾ Respiração determinada num período de incubação de dez dias em temperatura ambiente e com umidade equivalente a 24%.

A glicose total (GT) foi determinada conforme procedimento descrito por Ferreira et al. (2008), em 10g de solo úmido, submetido ao forno microondas por 2 min e a GT foi extraída em 10 ml de solução salina (NaCl, 0,5 %). Os resultados foram expressos em unidades específicas de cada análise por massa seca de solo.

Utilizou-se um bioensaio para avaliar a resposta metabólica da microbiota do solo à adição de solução de glicose e fósforo. Amostras de 40g de solo úmido foram acondicionadas em frasco de vidro (200 mL) e alíquotas de glicose, como fonte de C, e de solução de $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$, como fonte de P, foram aplicadas conforme descrito na Tabela 2. A umidade foi ajustada a 24% em cada amostra de solo. Em cada frasco foi colocado um copo descartável de 40 mL, contendo 5 mL de NaOH (1 mol L^{-1}) para determinar a atividade microbiana, em 24 h de incubação, à temperatura ambiente. Os experimentos foram instalados com três repetições. O rendimento metabólico (Y) nos primeiros 10 cm do solo foi obtido pela relação entre a liberação de CO_2 e a assimilação de carbono pela comunidade microbiana da respectiva amostra de solo, durante as 24

horas de incubação (SHEN; BARTHA, 1996). Após a incubação, determinou-se a atividade respiratória pela titulação com HCl (0,25 mol L⁻¹) e o consumo de glicose, como descrito anteriormente.

Os experimentos foram realizados segundo um delineamento inteiramente casualizado. Para as avaliações de COT, GT e CBM, foi utilizado um fatorial 3x3, com três repetições, sendo: três usos do solo (CE, FP e PD) e três épocas de amostragem (janeiro, junho e dezembro de 2008).

Tabela 2. Quantidade de carbono (C), aplicado na forma de glicose, e de fósforo (P), aplicado na forma de Na₂HPO₄·7H₂O, em cada tratamento, para avaliar a resposta metabólica do solo

| Tratamentos | Nutriente | |
|-------------|------------------------------|---------|
| | Carbono | Fósforo |
| | g kg ⁻¹ solo seco | |
| Controle | 0 | 0 |
| C | 1,6 | 0 |
| P | 0 | 400 |
| C + P | 1,6 | 400 |

Os resultados de atividade respiratória em resposta à adição de P foram submetidos à análise de regressão, utilizando-se a equação de regressão de Michaelis-Menten como medida da resposta da microbiota à adição de fósforo, a saber:

$$A = (A_{\max} P) / (k_m + P)$$

sendo A = atividade microbiana (mg kg⁻¹ dia⁻¹ de C-CO₂ no solo); A_{max} = atividade máxima resultante da adição de P no solo; P = fósforo adicionado (mg kg⁻¹ de P no solo); k_m = constante de Michaelis-Menten (mg de P kg⁻¹ de solo), em relação à utilização de P e à resposta da atividade microbiana. Os parâmetros da equação foram analisados a 5 % de probabilidade.

Para a avaliação da atividade respiratória e do rendimento metabólico em função da adição das doses de C e P, o fatorial utilizado foi 3x3x4, sendo três usos do solo e três épocas de amostragem, como descrito acima, e quatro tratamentos relacionados à adição de C e P [controle (sem adição de C e P); C (1,6 g de C kg⁻¹ de solo seco e sem adição de P); P (sem adição de C e 400 g de C kg⁻¹ de solo seco); C+P (1,6 g de C kg⁻¹

de solo seco e 400 g de P kg⁻¹ de solo seco)]. Os resultados de atividade respiratória diária desses bioensaios foram comparados pelo testes de médias, utilizando o teste de Tukey (P < 0,05).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade microbiana, medida pela liberação de CO₂ acumulado em 17 dias de incubação, foi afetada pelos sistemas de uso do solo e épocas de amostragem (Figura 2). Nos tratamentos controles, o sistema PD apresentou maior atividade respiratória com aumentos de 2,5 (janeiro), 1,5 (junho) e 0,93 (dezembro) vezes em comparação ao CE, sendo referendados valores acumulados de 148, 160 e 140 mg C-CO₂ kg⁻¹ solo, nas respectivas épocas em CE. Em contraste, o sistema FP apresentou diminuição da atividade em 3,0 (janeiro), 3,2 (junho) e 5,6 (dezembro) vezes aos valores observados no CE.

Comparativamente, os resultados mostram que a microbiota apresentou uma resposta diferencial à adição de P no solo, sob os três sistemas de uso (Figura 2). A área de CE teve um aumento de resposta da atividade respiratória de 2,8 (janeiro), 2,6 (junho) e 3,6 (dezembro) vezes no tratamento com maior dose de P, em relação à observada no CE sem adição de P, tendo diferenças expressivas entre os tratamentos. Na área de FP, as diferenças de resposta entre os tratamentos extremos foram de 2,6, 3,5 e 7,4 vezes na amostragem de janeiro, junho e dezembro, respectivamente. Nos tratamentos com P, os valores de atividade microbiana no PD foram superiores aos observados em FP e CE, contudo, as diferenças de respostas foram menores às observadas nos outros dois sistemas, nas três épocas de amostragem.

É importante destacar que as condições de umidade do solo nas três amostragens foram ajustadas de forma a evitar a interferência na atividade microbiana. Mesmo assim, certamente as condições climáticas (precipitação e temperatura), das épocas de amostragem podem modificar a dinâmica da comunidade microbiana do solo e interferir nos processos bioquímicos do solo, tais como mineralização e ciclagem de nutrientes na camada de solo estudada. Além disso, os sistemas CE e PD apresentam diferentes entradas de resíduos vegetais (quantidade e qualidade) durante as épocas, os quais certamente interferem na capacidade de resposta da microbiota do solo. O sistema FP apresentou menor atividade, em relação aos outros dois sistemas de uso, devido, provavelmente, à estabilidade (32 anos de plantio) e à produção de resíduos vegetais característicos em povoamento de pinus.

As diferenças na atividade microbiana nos três sistemas de uso do solo podem ser, principalmente, devido aos atributos químicos de cada sistema (Tabela 1). Como se

observa, o solo sob sistema PD apresenta quantidades expressivas de nutrientes disponíveis, a exemplo de fósforo, nitrogênio, potássio e cálcio. Por sua vez, FP acrescenta menores teores de carbono orgânico e de N total, importantes à atividade da microbiota, em relação ao CE. Essas diferenças nutricionais de cada sistema podem ser fatores regulatórios adicionais à atividade da microbiota. Deve-se considerar também que grande parte dessa resposta decorre da atividade de microrganismos heterotróficos, os quais dependem da disponibilidade de compostos orgânicos como fonte de energia e carbono (SYLVIA et al., 1999; BODDY et al., 2007; PAUL, 2007). Assim, a disponibilidade de nutrientes e de compostos orgânicos, em cada sistema, pode alterar a capacidade de resposta da microbiota do solo, em condição de ensaio.

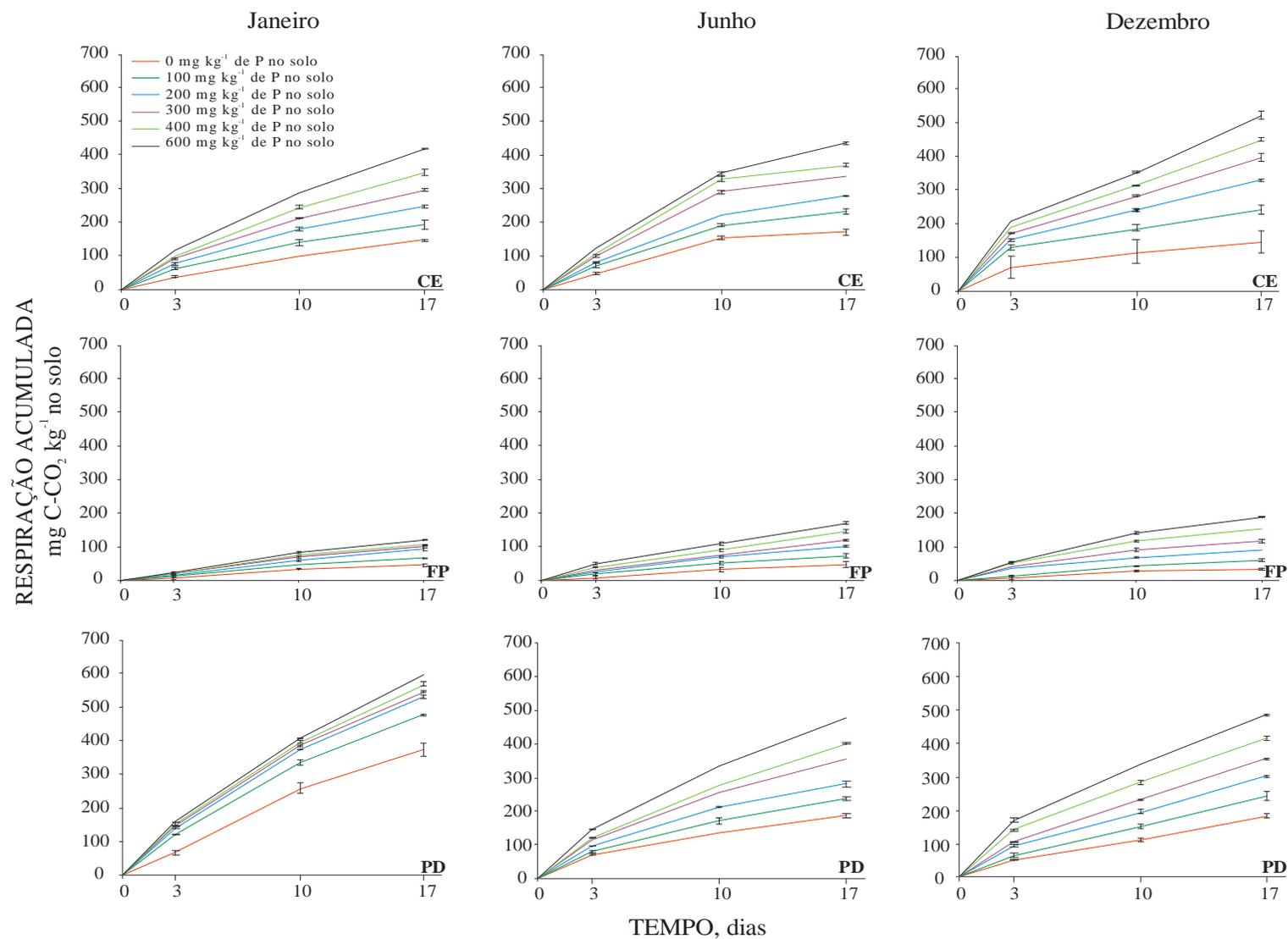


Figura 2. Liberação de CO₂ do solo em resposta à adição de fósforo em Latossolo, em área sob Cerrado (CE), Pinus (FP) e Plantio Direto (PD), na região de Uberlândia, MG, nas três épocas do ano analisadas. As barras indicam os intervalos de confiança a 5% (n=2).

Em resposta à adição de P, os três sistemas de uso do solo mostraram que as atividades respiratórias foram bastante diferentes, quando analisadas pelo modelo de regressão de Michaelis-Menten (Figura 2). Os parâmetros da equação foram todos significativos, a 5 % de probabilidade, nos sistemas de uso e épocas de amostragem do solo, à exclusão do k_m do sistema CE na amostragem de janeiro. Observa-se que os coeficientes de determinação das equações apresentaram altos graus de ajuste, sugerindo que a resposta da microbiota do solo à adição de P se aplica ao modelo de Michaelis-Menten.

O modelo de regressão descrito na equação de Michaelis-Menten tem sido mostrado em vários estudos de bioensaios na avaliação da utilização de nutrientes pelos microrganismos no solo, incluindo o fósforo (VINOLAS et al., 2001; VAN HEES et al., 2005; SCHNECKENBERGER et al., 2008). Esse modelo oferece dados importantes quanto à resposta dos microrganismos, destacando a capacidade máxima de resposta do solo e valores críticos de utilização do nutriente. Particularmente, valores de P superiores ao k_m indicam que o nutriente em estudo não é o fator determinante da resposta da atividade microbiana, sendo esta regulada por outro fator de maior necessidade nutricional. Os valores de k_m também podem indicar as demandas de nutrientes pela microbiota do solo em condições de ensaio.

Tabela 3. Demanda diária de fósforo (mg P kg^{-1} de solo) utilizado por unidade de carbono liberado na respiração microbiana do solo ($\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1}$ solo seco dia^{-1}), na profundidade de 0-10 cm, em relação à equação de Michaelis-Menten

| Área | Demanda nutricional de P / C-CO ₂ liberado | | | |
|------|---|------------|---------------|-------------|
| | Janeiro 2008 | Junho 2008 | Dezembro 2008 | Média geral |
| CE | 36,97 | 29,98 | 22,39 | 29,78 b |
| FP | 69,84 | 69,74 | 83,69 | 74,42 a |
| PD | 21,22 | 39,26 | 33,79 | 31,42 b |

Obs: Médias de três repetições. Valores na mesma coluna seguidos por letras minúsculas distintas (a-c), são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Embora os valores de A_{max} em FP tenham sido inferiores aos obtidos nos sistemas CE e PD, suas demandas de P foram significativamente maiores (Tabela 3). Essas demandas, calculadas pela relação entre dose aplicada de P e atividade respiratória, indicam que o fósforo atua como um fator crítico na resposta metabólica da microbiota.

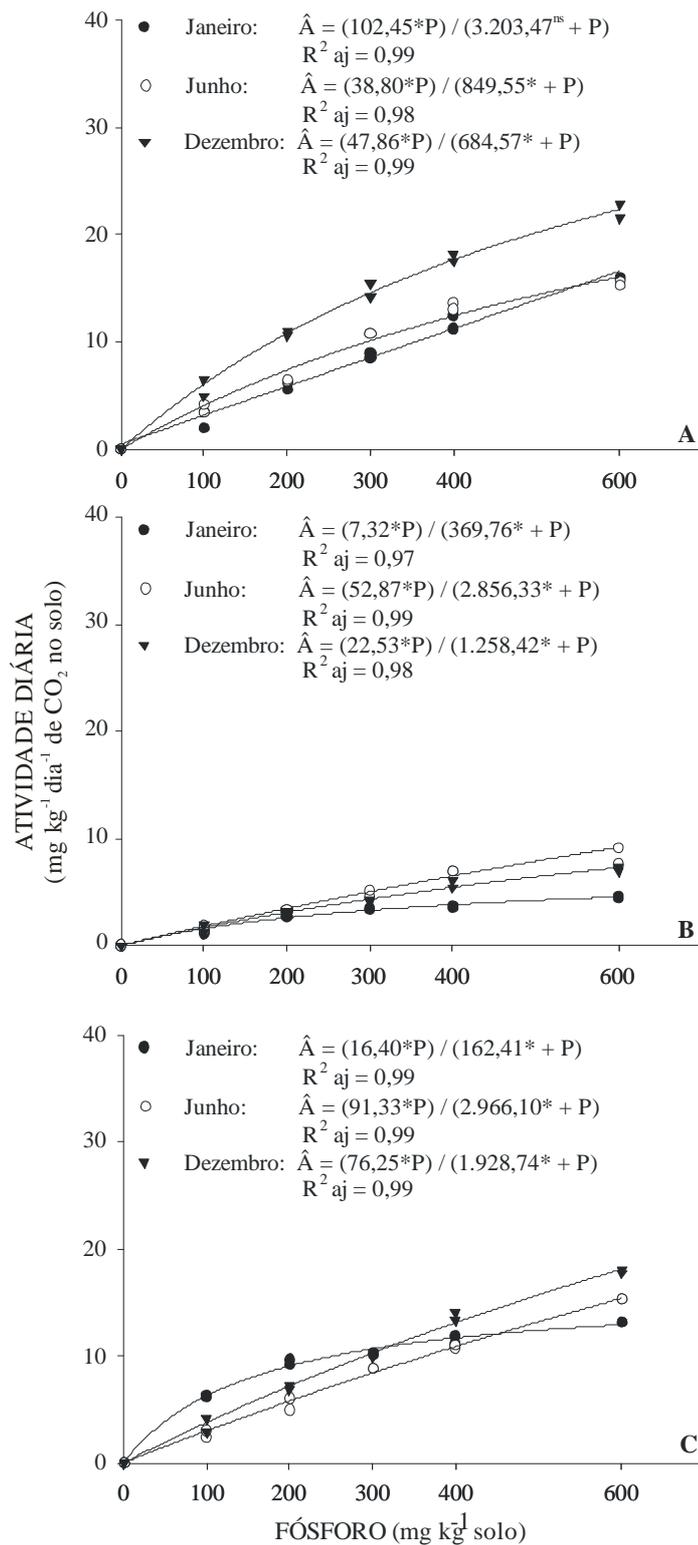


Figura 2. Análise de regressão de atividade metabólica diária, em função da adição de fósforo em solo de cerrado (Michaelis-Menten), em área sob cerrado (A), floresta de pinus (B) e plantio direto (C). * significativo, a 5 %; ^{ns} não significativo, a 5% de probabilidade.

Vários estudos, nos últimos anos, têm abordado a importância metabólica do fósforo sobre a microbiota em solos tropicais, a destaque os reportados por Cleveland et al. (2002), Ilstedt et al. (2003) e Ferreira et al. (2008). No entanto, mais estudos, em solos de cerrados, devem ser direcionados a respeito da importância biológica do fósforo, incluindo suas relações com demais nutrientes, tais como o carbono solúvel na solução do solo.

Os resultados apresentados na tabela 4 mostram que o sistema de uso do solo alterou o estoque de carbono no solo, representado pelos teores de carbono orgânico total (COT), glicose total (GT) e carbono da biomassa microbiana (CBM). Observa-se que os teores de COT e CBM foram superiores no PD, em relação aos sistemas CE e FP. O conteúdo de COT destaca-se como um dos principais atributos de qualidade do solo, devido à importância de compostos orgânicos nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (SYLVIA et al., 1999; PAUL, 2007). Por outro lado, o CBM destaca-se como o carbono orgânico ativo do solo, podendo ser um indicativo de transformação dos resíduos orgânicos, reserva e mineralização de nutrientes (ANDERSON; DOMSCH, 1989; DONG et al., 2006; PAUL, 2007). Esses atributos podem estar relacionados às características de resposta da microbiota à adição de nutrientes no solo, a exemplo do fósforo.

Tabela 4. Estoque de carbono orgânico¹ no solo, representado pelos teores de carbono orgânico total (COT), glicose total (GT²) e carbono da biomassa microbiana (CBM), nos três sistemas de uso avaliados

| Sistema de uso* | COT ³ | Carbono da GT ³ | CBM ³ |
|-----------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | g C kg ⁻¹ no solo | mg C kg ⁻¹ no solo | mg C kg ⁻¹ no solo |
| CE | 15,43 ± 0,09 | 27,9 ± 2,83 | 268,6 ± 15,7 |
| FP | 8,79 ± 0,13 | 8,88 ± 1,66 | 111,8 ± 5,5 |
| PD | 19,30 ± 0,16 | 19,02 ± 2,35 | 498,6 ± 48,6 |

¹ Os valores de carbono orgânico no solo (COT, GT e CBM) representam a média das três épocas de amostragem, com seus respectivos desvios.

² O valor de glicose total foi transformado em carbono neste açúcar no solo, usando o valor 6 de conversão (1 glicose = 6 carbonos).

³ Média de carbono obtida de três épocas de coletas de solo (janeiro, junho e dezembro de 2008), com três repetições de laboratório e com seus respectivos desvios padrão da média.

Em relação ao carbono, representado na porção de GT no solo, o sistema PD apresentou menor teor, indicando que o sistema apresenta baixo carbono orgânico solúvel como fonte de carbono e energia, quando comparado ao CE (Tabela 4). A maior atividade microbiana encontrada em PD está relacionada ao menor teor de GT encontrado nesse sistema. Vários trabalhos têm relatado a importância de determinar o conteúdo de carbono solúvel no solo, constituintes em aminoácidos, açúcares (sacarose, glicose) e proteínas (VAN HEES et al., 2005; BODDY et al., 2007; SCHNECKENBERGER et al., 2008). Estes constituintes indicam o que está prontamente disponível à microbiota do solo e estão, em grande parte, relacionados a transformações de resíduos orgânicos em processos bioquímicos, tais como a decomposição por enzimas hidrolíticas de celulose, hemicelulose e proteínas (SYLVIA et al., 1999; PAUL, 2007).

O bioensaio com adição de glicose e de fósforo mostrou expressivas diferenças da resposta metabólica do solo no período de 24 horas de incubação (Tabela 5). Percebe-se que, independentemente do tratamento utilizado, o sistema PD apresentou maior atividade respiratória, em relação aos sistemas de uso CE e FP. A adição de glicose (C) e de glicose associada a fósforo (C+P) no sistema PD promoveram um incremento na atividade respiratória, em relação ao tratamento que recebeu a adição de fósforo (P) e do controle.

Com relação ao rendimento metabólico (Y), o cálculo é feito em função da utilização de carbono pelos microrganismos, portanto só foram calculados nos tratamentos com adição de C e C+P. Dentre os sistemas de uso, assim como ocorreu para a atividade respiratória, o sistema PD se destacou, proporcionando maiores valores comparativamente aos sistemas CE e FP, sendo este último o que apresentou menores valores (Tabela 5). A baixa fertilidade do solo, sob estes usos, pode ter contribuído para este comportamento.

No sistema CE, diferenças expressivas ocorreram na atividade respiratória e no rendimento metabólico do solo (Tabela 5). Nesse sistema, as adições de P e C resultaram em aumentos significativos de 1,59 e 2,59 vezes aos observados no tratamento controle, respectivamente. Observou-se também o maior aumento da atividade microbiana (4,99 vezes) no tratamento C + P, em comparação ao controle, ou seja, as respostas microbianas ocorreram mais rapidamente quando o P foi adicionado juntamente à glicose, demonstrando o efeito interativo existente entre P e C. Observou-se também que o FP teve aumentos importantes na resposta metabólica do solo, contudo

as respostas não se destacaram como nos outros dois sistemas (Tabela 5). A baixa resposta de CE e FP pode estar associada à baixa disponibilidade de nutrientes, a exemplo do fósforo (Tabela 1).

Tabela 5. Resposta metabólica da microbiota do solo à adição de glicose e fósforo, sob diferentes sistemas

| Tratamento | Atividade respiratória | | | Rendimento metabólico (Y) | | |
|------------|---|---------|----------|---|---------|---------|
| | CE | FP | PD | CE | FP | PD |
| | mg C-CO ₂ kg ⁻¹ solo seco h ⁻¹ | | | mg C-CO ₂ mg ⁻¹ carbono | | |
| Controle | 1,72 dB | 1,00 bB | 3,24 cA | -- | -- | -- |
| P | 2,74 cB | 1,85 bC | 4,30 bA | -- | -- | -- |
| G | 4,46 bB | 3,44 aC | 12,11 aA | 0,105 A | 0,071 B | 0,299 A |
| G + P | 8,58 aB | 3,78 aC | 12,99 aA | 0,148 B | 0,091 C | 0,348 A |

Médias de três repetições. Valores na mesma coluna seguidos por letras minúsculas distintas (a-c), e valores na mesma linha seguidos por letras maiúsculas distintas (A-C) são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). * CE = cerrado; FP: plantação de Pinus; PD = Plantio Direto.

O uso de bioensaios com adição de nutrientes no solo pode ser um atributo adicional na avaliação da resposta da microbiota, sendo alguns ensaios inclusive, indicativos de disponibilidade de nutrientes no solo, a exemplo de fósforo (NORDGREN, 1992; ILSTEDT et al., 2007). Além disso, os ensaios podem oferecer importantes informações a respeito da mineralização de substratos orgânicos pela microbiota do solo (TEKLAY et al., 2006; GNANKAMBARY et al., 2008). No cerrado brasileiro, há poucos trabalhos relacionados à resposta metabólica e o estado funcional da microbiota dos solos, sendo necessários mais estudos envolvendo esse importante componente ativo do solo, aplicados a outras atividades agrícolas de destaques na região.

O uso do solo tem recebido, nos últimos anos, grande destaque devido à crescente preocupação com as mudanças climáticas. Estudos comparativos entre sistemas de uso com ênfase na atividade da microbiota e processos bioquímicos têm sido base de pesquisa de muitos centros em ecologia do solo (TEKLAY et al., 2006; GNANKAMBARY et al., 2008). As relações de comparação entre os ecossistemas terrestres podem ser de fundamental relevância em modelos de predição da qualidade do solo. Neste trabalho, foram feitas abordagens comparativas de três sistemas de uso do solo, mostrando os impactos da atividade agrícola (PD) e florestal (FP), em relação ao sistema de referência (CE).

4 CONCLUSÕES

1. Os sistemas de uso do solo afetaram a atividade microbiana, avaliada pelo C liberado, e os teores de COT e CBM, sendo os maiores incrementos observados no sistema PD e os menores no solo sob FP, havendo influência da época de avaliação sobre a atividade dos microrganismos.
2. A aplicação de doses crescentes de P promoveu aumento da atividade microbiana e metabólica diária dos microrganismos. A equação de Michaelis-Menten se mostrou uma ferramenta importante da avaliação da resposta da microbiota à adição de P.
3. A adição de glicose e fósforo alterou a atividade respiratória e o rendimento metabólico entre os sistemas de uso do solo, com maiores incrementos no sistema PD. O uso de testes de incubação do solo com adição de nutrientes pode ser usado para caracterizar o potencial de resposta metabólica de solos com características de uso diferentes, sendo úteis no conhecimento funcional dos solos da região do cerrado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BODDY, E.; HILL, P.W.; FARRAR, J.; JONES, D.L. Fast turnover of low weight components of the dissolved organic carbon pool of temperate grassland field soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 39, p. 827-835, 2007.

CLEVELAND, C., TOWNSEND, A.R.; SCHMIDT, S.K. Phosphorus limitation of microbial processes in moist tropical forest: evidence from short-term laboratory incubations and field studies. **Ecosystems**, New York, v. 5, p. 680-691, 2002.

DONG, X.; YAO, H.; YAND HUANG, CY. Microbial biomass, N mineralization and nitrification, enzyme activities, and microbial community diversity in tea orchard soils. **Plant and Soil**, The Hague, Holanda, v. 288, p. 319–331, 2006.

EDWARD, C.C.; HAYES, M.H.B.; CIAVATTA, C. Organic wastes in soils: Biogeochemical and environmental aspects. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 39, p. 1239-1243, 2007.

EKENLER, M.; TABATABAI, M.A. Effects of liming and tillage systems on microbial biomass and glycosidases in soils. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 39, p. 51–61, 2003.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M.A. Phosphatases in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 9, p. 167-172, 1977.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed., Rio de Janeiro, 1997, 212 p.

FERREIRA, A.S., OLIVEIRA, R.S., SANTOS, M.A.; BORGES, E.N. Atividade respiratória da microbiota e conteúdo de glicose em resposta à adição de fósforo em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, p. 1891-1897, 2008.

GNANKAMBARY, Z.; ILSTEDT, U.; NYBERG, G.; HIEN, V.; MALMER, A. Nitrogen and phosphorus limitation of soil microbial respiration in two tropical agroforestry parklands in the south-Sudanese zone of Burkina Faso: The effects of

canopy and fertilization. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 40, p. 350-359, 2008.

ILSTEDT, U.; SINGH, S. Nitrogen and phosphorus limitations of microbial respiration in a tropical phosphorus-fixing Acrisol (Ultisol) compared with organic compost. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 37, p. 1407–1410, 2005.

ILSTEDT, U., GIESLER, R., NORDGREN, A.; MALMER, A. Changes in soil chemical and microbial properties after a wildfire in a tropical rainforest in Sabah, Malaysia. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 35, p. 1071–1078, 2003.

ILSTEDT, U., NORDGREN, A.; MALMER, A. Soil chemical and microbial properties after disturbance by crawler tractors in a Malaysian forest plantation. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 225, p. 313-319, 2006.

ILSTEDT, U.; SINGH, S.; NORDGREN, A. Using perlite as a substrate carrier for measuring microbial available phosphorus by respiration kinetics in soils. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 43, p. 503-510, 2007.

MARSCHNER, P. SOLAIMAN, Z.; RENGEL, Z. Brassica genotypes differ in growth, phosphorus uptake and rhizosphere properties under P-limiting conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 39, p. 87-98, 2007.

MONDINI, C.; CAYUELA, M.L., SINICCO, T.; CORDARO, A.R.; SÁNCHEZ-MONEDERO, M.A. Greenhouse gas emissions and carbon sink capacity of amended soil evaluated under laboratory conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 39, p. 1366-1374, 2007.

NORDGREN, A. A method for determining microbially available N and P in an organic soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 13, p. 195–199, 1992.

PAUL, E.A. **Soil Microbiology, ecology, and biochemistry**. 3th. ed. New York: Academic Press, 2007, 340p.

PENG, S.; PIAO, S.; WANG, T.; SUN, J.; SHEN, Z. Temperature sensitivity of soil respiration in different ecosystems in China. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 41, p. 1008-1014, 2009.

QIU, S.; McCOMB, A.J.; BELL, R.W. A mass-balance approach to measuring microbial uptake and pools of phosphorus in nutrient-amended soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 39, p. 187-193, 2007.

SANCHEZ, P.A. Soil fertility and hunger in Africa. **Science**, Washington, v. 295, p. 2019-2020, 2002.

SCHNECKENBERGER, K.; DEMIN, D.; STAHR, K.; KUZYAKOV, Y. Microbial utilization and mineralization of [¹⁴C]glucose added in six orders of concentration to soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 40, p. 1981-1988, 2008.

SHEN, J.; BARTHA, R. Metabolic efficiency and turnover of soil microbial communities in biodegradation tests. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, p. 2411–2415, 1996.

SMITH, P. POWLSON, D.S.; SMITH, J.U.; FALLOON, P.D.; COLEMAN, K. Meeting Europe's climate change commitments: quantitative estimates of the potential for carbon mitigation by agriculture. **Global Change Biology**, Oxford, v. 6, p. 525-539, 2000.

STOTZKY, G.; NORMAN, A.G. Factors limiting microbial activities in soil. **Archives of Microbiology**, Berlin, v. 40, p. 341–369, 1961.

STOTZKY, G. Microbial respiration. In: BLACK, C.A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. American Society of Agronomy, Madison, v. 2, p. 1550-1570. 1965.

SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. **Principles and applications of soil microbiology**. Prentice Hall, 1999, 550 p.

TEDESCO, M.J.; BOHNEM, H.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed., Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 174 p., 1995. (Boletim Técnico, 5).

TEKLAY, T., NORDGREN, A.; MALMER, A. Soil respiration characteristics of tropical soils from agricultural and forestry land-uses at Wondo Genet (Ethiopia) in response to C, N and P amendments. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 38, p. 125–133, 2006.

VAN HEES, P.A.W.; JONES, D.L.; FINLAY, R.; GODBOLD, D.L.; LUNDSTRÖM, U.S. The carbon we do not see- the impact of low molecular weight compounds on

carbon dynamics and respiration in forest soils: a review. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 37, p. 1-13, 2005.

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

VINOLAS, L.C.; HEALEY, J.R.; JONES, D.L. Kinetics of soil microbial uptake of free amino acids. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 33, p. 67-74, 2001.

WANG, Q.K.; WANG, L.S.; LIU, Y.X. Responses to N and P fertilization in a young *Eucalyptus dunnii* plantation: Microbial properties, enzyme activities and dissolved organic matter **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 40, p. 484-490, 2008.

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

CAPÍTULO 3

IMPACTOS DO USO DO SOLO NOS INDICADORES MICROBIANOS, QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS E CARBONO ORGÂNICO NO CERRADO

RESUMO

VINHAL-FREITAS, ISABEL CRISTINA. Impactos do uso do solo nos indicadores microbianos, químicos e bioquímicos e carbono orgânico no cerrado. In: VINHAL-FREITAS, I.C. **Bioensaios com fósforo e indicadores químicos, microbianos e bioquímicos do solo, em áreas sob cerrado, pinus e sistema plantio direto.** 2009. 75p. Uberlândia: UFU, 2009. p. 53-75. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Solos) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.⁵

As propriedades biológicas e bioquímicas do solo têm sido relacionadas com grande destaque na avaliação da qualidade do solo. No Brasil, em especial no cerrado, há poucos trabalhos de avaliação dos impactos de uso da terra nos indicadores biológicos e bioquímicos. Este trabalho teve como objetivo avaliar os impactos de uso do solo de cerrado nas propriedades microbianas e bioquímicas do solo, em área sob cerrado (CE), floresta de pinus (FP) com 32 anos e plantio direto (PD) com 11 anos. As coletas das amostras de solo, na profundidade de 0 a 10 cm, foram realizadas em janeiro, junho e dezembro de 2008. As amostras de solos foram avaliadas quanto à respiração acumulada, carbono orgânico total (COT); carbono da biomassa microbiana (CBM) e atividade enzimática (β -glicosidase, desidrogenase e fosfatases ácida, neutra e alcalina). Pelos resultados obtidos, observou-se que os sistemas de uso do solo e as épocas de amostragem do solo afetaram os indicadores biológicos e as formas de carbono orgânico do solo. Dentre os sistemas de uso do solo, o PD se destacou apresentando valores superiores de atividade respiratória, COT, CBM e atividade da desidrogenase, β -glicosidase e fosfatases. Em todos os sistemas e épocas de amostragem, a atividade da fosfatase ácida (pH 4,0) foi superior às de pH neutro (7,0) e alcalino (9,0), sendo os valores de PD superiores aos observados em CE e FP. O uso de indicadores microbianos e bioquímicos mostraram ser sensíveis às variações do uso do solo, sendo portanto indicados em estudos dessa natureza. A análise de componentes principais (ACP) revelou o sistema PD, por intermédio da avaliação conjunta dos indicadores microbiológicos e químicos do solo, foi superior aos sistemas CE e, principalmente, FP.

Termos de Indexação: Plantio direto, Pinus, Cerrado, Fosfatase, β -glicosidase, Desidrogenase, Carbono da biomassa microbiana, Matéria orgânica.

⁵ Orientador: Gilberto Fernandes Corrêa – UFU (Orientador) e Adão de Siqueira Ferreira – UFU.

ABSTRACT

VINHAL-FREITAS, ISABEL CRISTINA. Impacts of the soil use on microbial, chemical and biochemical properties in savannah. In: **Phosphorus bioassays and chemical, microbial and biochemical indicators of soil in areas under savannah, pinus forest and no-tillage**. 2009. 75p. Uberlândia: UFU, 2009. p. 53-75. Dissertation (Master Program Agronomy/Soil Science) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia.⁶

The biochemical and biological properties of soil have been related to high quality assessment of soil. In Brazil, especially in the savanna, there are few studies of impact assessment for use in soil biochemical and biological indicators. This study aimed to evaluate the impacts of land use in the cerrado and the biochemical properties of the soil microbiota in area under native cerrado (CE), the pine forest (FP) with 32 years and no-tillage (PD) with 11 years. The collection of soil samples were taken in January, June and December of 2008. Samples of soil were analyzed for the chemical characteristics (pH, N, P, K, Ca, Mg), total organic carbon (COT), microbial biomass carbon (CBM), enzyme activity (β -glucosidas, dehydrogenase and acid, neutral and alkaline phosphatases). It was observed that the system of use promotes changes in the levels of total and available nutrients. The values of CBM were also higher in PD and a decrease in FP was observed in comparison to CE, the same trend occurs for the COT. Regarding the activity of dehydrogenase, there is a higher activity in the PD and lower in FP, with significant values among the three systems. In all systems and times of sampling, the activity of acid phosphatase were higher than pH 7.0 and 9.0. Significant differences in activity of β -glucosidase were observed among systems and seasons, with lower values in the FP. The analysis of principal components showed that the different systems of land use reflect changes in biological and biochemical indicators of the soil.

Index terms: No tillage, Pine, Savannah, Phosphatase, β -glucosidase, Dehydrogenase, Microbial carbon biomass, Organic matter.

⁶ Guidance Committee: Gilberto Fernandes Corrêa – UFU (Major Professor) and Adão de Siqueira Ferreira – UFU.

1 INTRODUÇÃO

O uso da terra relacionado às atividades agrícolas é uma das principais causas de degradação dos solos, afetando negativamente as propriedades químicas, físicas e biológicas (DICK, 1992; LAL et al., 1998; TRASAR-CEPEDA et al., 2008). Atualmente, existe um grande interesse em quantificar as perdas de qualidade dos solos, em decorrência das práticas de uso e manejo. Porém, existem muitos relatos divergentes na literatura a respeito dos conceitos de qualidade dos solos, não existindo metodologias padronizadas que avaliem as alterações no solo (DORAN et al., 1994; LAL, 1999; TRASAR-CEPEDA et al., 2008).

Em sistemas agrícolas, muitos trabalhos têm mostrado que a qualidade do solo pode ser referida como um funcionamento equilibrado do sistema de uso, sem perdas de nutrientes e da capacidade dos solos em reciclar elementos importantes aos requerimentos nutricionais das plantas e organismos do solo (DORAN et al., 1994; LAL, 1999; VISSER; PARKINSON, 1997; TRASAR-CEPEDA et al., 2008). Embora vários processos físicos e químicos estejam envolvidos no funcionamento do solo, os atributos biológicos e bioquímicos têm sido geralmente focalizados na estimativa da qualidade do solo, devido à indicação que estas propriedades reagem mais rapidamente às alterações do meio em função da resposta, principalmente, da microbiota do solo (NANNIPIERI et al., 1990; VANHALA; AHTIAINEN, 1994; SYLVIA et al., 1999; PAUL, 2007).

As formas de avaliar os indicadores biológicos e bioquímicos do solo envolvem as mais variadas técnicas e procedimentos, os quais permitem estabelecer índices de qualidade (PAUL, 2007; PÉREZ-DE-MORA et al., 2008; LAGOMARSINO et al., 2009). Entretanto, as formas de avaliação que permitem obter informações associadas à ciclagem de nutrientes e às transformações dos resíduos orgânicos têm sido sugeridas na medida da funcionalidade dos sistemas agrícolas e agroflorestais (CARVALHO et al., 2008; TRASAR-CEPEDA et al., 2008). Alguns autores dividem os indicadores em “parâmetros” gerais e específicos (NANNIPIERI et al., 1995; TRASAR-CEPEDA et al., 2008). Entre os indicadores gerais, destacam-se a biomassa microbiana (carbono e nitrogênio), atividade de desidrogenase, respiração do solo e mineralização do nitrogênio, enquanto que os específicos estão relacionados à atividade de enzimas

hidrolíticas extracelulares envolvidas nos ciclos dos nutrientes, a exemplo da β -glicosidase, urease e fosfatases (GIL-SOTRES et al., 2005).

Atualmente, os estudos de avaliação do estado funcional do solo têm sido argumentados em vários trabalhos, devido à crescente preocupação com as alterações climáticas (SCHLESINGER; ANDREWS, 2000; LEE et al., 2004). Além disso, os relatos têm sido associados, também, aos impactos de práticas de manejo dos solos quanto ao sequestro de carbono (GRANIER et al., 2000; LEE et al., 2004). No Brasil, especialmente na região do cerrado, há poucas informações sobre indicadores biológicos e bioquímicos associados à microbiota do solo, sendo demandado mais trabalhos relacionados às atividades focadas aos sistemas de uso.

Este trabalho teve como objetivo avaliar as alterações dos indicadores biológicos, químicos e bioquímicos, em um Latossolo muito argiloso fase cerrado, sob os sistemas de uso: cerrado (CE), floresta de pinus (FP) e plantio direto (PD) em diferentes épocas de avaliação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado com amostras de Latossolo muito argiloso, fase cerrado, da Fazenda Floresta do Lobo, no município de Uberlândia-MG. A fazenda está localizada a 18°58' de latitude S e 48°12' de longitude W, com altitude aproximada de 950 m e relevo plano. O clima local é do tipo Cwa, apresentando inverno seco e verão quente e chuvoso, segundo a classificação de Köppen (EMBRAPA, 1982).

As amostras de solos foram coletadas em três áreas, sob diferentes condições de usos. A primeira área sob cerrado (CE), a segunda sob floresta de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* (FP) com árvores de 32 anos, em sistema de floresta fechada e com camada espessa de serrapilheira na superfície e a terceira sob plantio direto (PD) com uso intensivo do solo, utilizando sistema de rotação de culturas (milho, soja e pousio em épocas de estiagem, com predominância de capim *Brachiaria brizantha*). Esta terceira área vem sendo manejada em sistema de plantio direto há 11 anos, sendo a adubação e calagem realizada conforme as necessidades de cada cultura, tendo em vista alta produtividade.

As coletas de solo foram realizadas numa área de 600 cm² (30 x 20 cm), a 10 cm de profundidade, amostrando-se quatro subamostras nos locais escolhidos aleatoriamente dentro de cada área. As amostras de solo foram coletadas em 2008 no período de chuvas (janeiro e dezembro) e no período seco (junho) e foram passadas em peneira de malha de 3,35 mm. Uma porção da amostra de solo foi seca ao ar e triturada em cadinho de porcelana. Nesta porção, quantificou-se as variáveis apresentadas nas tabelas 1 e 2, conforme Tedesco et al. (1995) e Embrapa (1997). O restante das amostras de solo, em condições naturais, foi acondicionada a 4°C.

A atividade respiratória foi estimada pela quantidade de CO₂ liberado em 17 dias de incubação, conforme Stotzky (1965). Porções de 100g de solo úmido foram acondicionadas em frasco de 1/2 L, hermeticamente fechados, sendo a captura de CO₂ obtida por sua reação com 10 mL de NaOH (1 mol L⁻¹) em copos plásticos de 40 mL. A determinação do CO₂ liberado foi realizada no terceiro, décimo e décimo sétimo dias após a instalação do experimento. Após cada período de incubação, foram retirados os copos plásticos dos frascos e nestes colocados 5 mL de BaCl₂.2H₂O (1 mol L⁻¹) e três gotas de fenolftaleína (1% em solução de etanol, 50%), sendo o excesso de NaOH titulado com HCl (0,5 mol L⁻¹). Novos copos plásticos com NaOH foram colocados nos

frascos de vidro para subseqüentes períodos de incubação. A amostra do branco foi constituída em frasco sem a porção de solo. A quantidade de carbono (C) liberada foi estimada em mg de C-CO₂ kg⁻¹ de solo seco. A temperatura ambiente, durante a realização do experimento de atividade microbiana, variou de 21,5 a 24 °C, com temperatura média de 23 °C

Tabela 1. Características físicas e químicas do solo⁽¹⁾ na profundidade de 0 a 10 cm, sob três sistemas de uso

| Indicadores | CE | FP | PD |
|--|-----------|-----------|-----------|
| Areia | 175 | 177 | 167 |
| Silte | 125 | 92 | 184 |
| Argila | 700 | 731 | 648 |
| Matéria Orgânica (g kg ⁻¹) | 14,1 | 9,9 | 23,2 |
| pH (água) | 4,7 | 4,5 | 6,7 |
| N total (g kg ⁻¹) | 1,23 | 0,81 | 2,03 |
| P (resina) (mg dm ⁻³) | 1,70 | 1,50 | 39,30 |
| K ⁺ (mg dm ⁻³) | 30,00 | 10,00 | 328,00 |
| Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³) | 0,10 | 0,10 | 4,90 |
| Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³) | 0,10 | 0,10 | 1,50 |
| Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³) | 0,90 | 0,50 | 0,00 |
| H + Al (cmol _c dm ⁻³) | 3,40 | 3,10 | 1,50 |
| CTC total (cmol _c dm ⁻³) | 3,70 | 3,30 | 8,70 |
| Saturação de Bases (%) | 8,0 | 7,0 | 83 |
| Saturação por alumínio (%) | 73 | 69 | 0 |
| Umidade ⁽²⁾ (%) | 16 | 20 | 19,5 |

⁽¹⁾ As amostras coletadas correspondem aos primeiros 10 cm de profundidade. ⁽²⁾ Umidade determinada no mesmo dia das coletas (média). CE = Cerrado; FP = floresta de Pinus; PD = Plantio Direto.

O carbono orgânico total (COT) do solo foi determinado pela oxidação da matéria orgânica com K₂CrO₇ em meio ácido, sendo o excesso de dicromato titulado com (NH₄)₂Fe(SO₄)₂ (YEOMANS; BREMMER, 1988).

O carbono da biomassa microbiana (CBM) no solo foi estimado pelo método de fumigação-extração, descrito por Vance et al. (1987), utilizando-se 20g de solo úmido, em amostra não-fumigada e fumigada com clorofórmio, por 24 horas, a 25 °C. A extração do C foi realizada com 40 mL de solução de K₂SO₄ (0,5 mol L⁻¹), e CBM calculado pela equação: CBM = C_{ext} x 2.66 (VANCE et al., 1987), onde C_{ext} é a diferença entre o carbono extraído da amostra fumigada e a não-fumigada.

As atividades de β-glicosidase e fostases (ácida – pH 4,0, neutra – pH 7,0 e alcalina – pH 9,0) foram determinadas em substratos sintéticos de p-nitrofenil-β-D-

glicopiranosídeo e *p*-nitrofenil fosfato, respectivamente. β -glicosidase e fosfatases foram quantificadas de acordo com Eivazi & Tabatabai (1988) e Tabatabai & Bremner (1969), respectivamente. Para atividade de fosfatases, ajustou-se o pH do tampão universal a pHs 4,0, 7,0 e 9,0. Avaliou-se a atividade das enzimas por meio de curvas padrões nos respectivos tampões com *p*-nitrofenol, sendo o desenvolvimento da tonalidade amarela quantificado em espectrofotômetro, nos comprimentos de ondas de 505 nm (β -glicosidase) e 464 nm (fosfatases). Os valores das atividades das enzimas foram expressos em $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ no solo.

A atividade da desidrogenase foi medida de acordo com metodologia proposta por von Mersi e Schinner (1991). A atividade da enzima foi determinada pela liberação de *p*-nitrofenol do substrato sintético INT (2-*p*-Iodofenil-3-*p*-nitrofenil-5-fenil cloreto de tetrazólio). Uma porção de 1 g de solo úmido foi misturada com 1,0 mL de Tris (1 mol L⁻¹, pH 7,0) e 2 mL de INT 10 mmol L⁻¹ (5 mg mL⁻¹ de INT em 2% de N,N-dimetilformamida). O controle recebeu 1,5 mL de tampão Tris e 2 mL de água destilada. As amostras foram incubadas a 37°C, por 24 horas. Após a incubação, adicionou-se 2 mL de água destilada nas amostras e 2 mL de INT no controle. O INTF (2-*p*-Iodofenil-3-*p*-nitrofenil-5-fenil cloreto de tetrazólio formazan) formado foi extraído com 10 mL da solução de dimetilformamida/etanol (1:1), seguido da incubação, a 20°C, por 1 hora. Uma alíquota de 1,5 mL do sobrenadante foi centrifugada a 6.000 g por 5 minutos e a absorbância da leitura dessa alíquota foi feita no espectrofotômetro, no comprimento de onda de 464 nm. Uma curva padrão com INTF foi usada para avaliar a atividade da enzima, expressa em $\mu\text{g INTF g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado.

Nos ensaios em que se avaliaram a respiração acumulada e as atividades de desidrogenase e β -glicosidase, o esquema fatorial utilizado foi o 3x3, com três repetições, sendo: três usos do solo (cerrado, pinus e plantio direto) e três épocas de amostragem do solo (janeiro, junho e dezembro de 2008).

No ensaio da atividade de fosfatase, o esquema fatorial foi o 3x3x3, com três repetições de laboratório, sendo: três usos do solo (cerrado, pinus e plantio direto), três épocas de amostragem do solo (janeiro, junho e dezembro de 2008) e três valores de pH (4,0, 7,0 e 9,0).

Foram calculados, para cada atributo, os valores médios e desvios padrão (DP), bem como a porcentagem do coeficiente de variação dos valores obtidos para o solo das

três áreas estudadas. As diferenças estatísticas entre os valores médios foram determinadas pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). As análises multivariadas na descrição dos componentes principais em agrupamentos foram geradas pelo programa CAMO.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Indicadores biológicos e carbono orgânico

As áreas sob diferentes sistemas de uso apresentaram alterações em relação aos indicadores biológicos e COT. A atividade respiratória, medida pela liberação de CO₂ em 17 dias, foi alterada significativamente em decorrência dos diferentes sistemas de uso, observando-se maiores valores em PD e menores em FP (Figura 1). A maior atividade respiratória dos microrganismos observada no sistema PD deve estar relacionada às melhores condições químicas do solo sob este sistema, evidenciada pelos valores superiores de pH, N, P, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, CTC, COT e saturação por bases e ausência de Al³⁺, que além de ser tóxico às plantas, pode inibir a atividade microbiana.

Com relação à influência da época de amostragem do solo, verifica-se, para o sistema PD, que a coleta realizada em janeiro proporcionou maior respiração acumulada, o que pode estar associada à maior atividade microbiana neste período, onde há maior oferta de água e temperaturas mais elevadas.

Em sistemas agrícolas, uma das principais formas de avaliação da qualidade do solo é por meio da representação do carbono nas frações da matéria orgânica e da biomassa microbiana (CBM). Em relação a isso, nota-se que o COT foi significativamente menor em FP (Figura 1). Contudo, os valores de CBM foram significativamente diferentes entre os sistemas, observando-se um aumento (1,85 vezes) no sistema PD e diminuição (2,41 vezes) na FP, em relação ao observado no CE. Os maiores teores de COT e CBM observados no sistema PD se devem ao aporte orgânico neste sistema, obtido por meio dos restos culturais. Neste sentido, a rotação de culturas tem papel fundamental quantitativamente, demonstrado pelos valores superiores de COT, e qualitativamente, evidenciado pelos maiores valores de CBM. De acordo com Carvalho et al. (2008), a determinação do CBM reflete a capacidade de resposta da microbiota em transformar fontes de carbono orgânico em estruturas organizacionais e funcionais das células microbianas. Esses atributos, em termos práticos, são de destaque por mostrarem a intensidade de mineralização dos resíduos orgânicos e de ciclagem de nutrientes no solo.

O sistema FP, que já havia apresentado menor respiração acumulada (Figura 1), também apresentou os menores teores de COT e CBM. A justificativa para este comportamento é que, apesar da presença de uma camada espessa de serrapilheira neste

sistema, isto não reflete em um maior teor de matéria orgânica no solo. A baixa taxa de decomposição da matéria orgânica, principalmente da floresta plantada, devido a fatores como baixa qualidade nutricional da serrapilheira, baixa fertilidade do solo, pH inadequado à atividade biológica, baixa densidade e diversidade de organismos decompositores (O'CONNEL; SANKARAN, 1997). Esse resíduo do FP, composto principalmente por acículas de *Pinus caribae*, contém alto teor de lignina e extrativos, comprometendo a ciclagem de nutrientes, já que uma boa parte de nutrientes minerais fica retida, em quantidades consideráveis, nos resíduos não decompostos das plantas, alterando o equilíbrio do sistema solo-planta (CHAVES; CORRÊA, 2005).

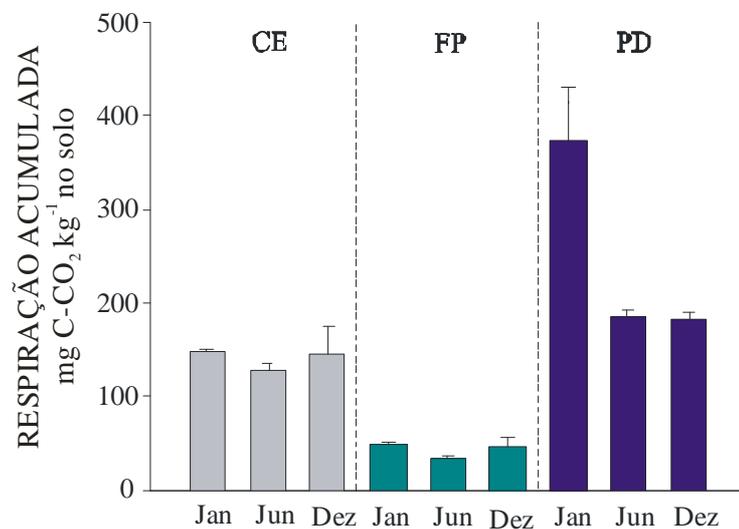


Figura 1. Respiração acumulada, medida pela liberação de CO₂ avaliada em 17 dias, no solo sob diferentes usos e épocas de amostragem do solo. As barras representam o desvio padrão (n=2). CE: Cerrado; FP: floresta de Pinus e PD: Plantio Direto.

A decomposição de resíduos, implementada pela atuação da pedofauna do solo, destaca-se como um importante processo de interesse na avaliação da qualidade do solo. Os organismos, como besouros e minhocas, atuam na decomposição, aumentando área superficial dos resíduos, e assim têm maior contato com outros componentes do solo. A microfauna, indicada pela presença principalmente por fungos e actinomicetos, destaca-se pela capacidade destes organismos em liberar enzimas hidrolíticas que transformam polímeros orgânicos insolúveis (celulose, lignina e outros) em compostos solúveis de baixa massa molecular, a exemplo de glicose, celobiose, celotriose e manose (SYLVIA et al., 1999). Assim, a decomposição dos resíduos certamente tem grande relevância na

capacidade de resposta da microbiota, como a respiração e biomassa microbiana do solo.

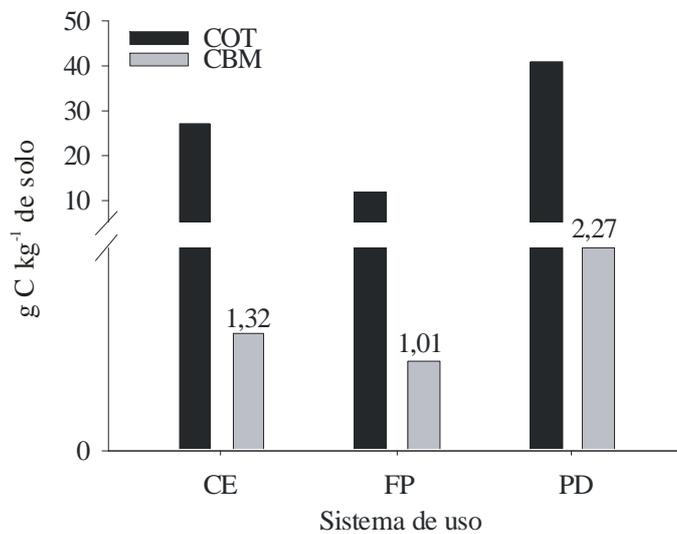


Figura 2. Representação do carbono na fração orgânica (COT) e na biomassa microbiana do solo (CBM), nos três sistemas de uso. CE: Cerrado; FP: floresta de Pinus e PD: Plantio Direto.

3.2 Atributos bioquímicos no solo

Os atributos bioquímicos, detectados pela atividade de desidrogenase, glicosidase e fosfatases, foram indicadores sensíveis na avaliação dos sistemas de uso do solo. As épocas de amostragem afetaram significativamente os valores de medidas das enzimas.

Em relação à atividade de desidrogenase, observa-se maior atividade no sistema PD e menor em FP. Apenas no sistema FP observou-se diferença nos valores da atividade da enzima, detectados entre as três épocas de amostragens do solo (Figura 3A). A desidrogenase é um indicador sensível de medida do estado metabólico do solo, devido à sua atividade intracelular. A atividade da enzima ocorre especificamente na transferência de elétrons NAD^+ e NAPH em processos catabólicos e anabólicos do solo (SYLVIA et al., 1999). Além disso, ela atua na fosforilação de compostos orgânicos, a exemplo da adição de P inorgânico em gliceraldeído 3-fósforo formando ácido 1,3-difosfoglicérico na via glicolítica. Assim, a enzima está diretamente ligada às transformações de compostos orgânicos intracelulares e sua atividade tem implicações em processos importantes no solo, como a mineralização de resíduos orgânicos (NANNIPIERI et al., 1990; PANKHURST et al., 1998; LAGOMARSINO et al., 2009).

Nas três épocas de amostragem, não se observou diferenças de atividade de β -glicosidase nos sistemas de uso. Entretanto, expressivas diferenças de atividade foram observadas entre os sistemas de uso do solo, com menores valores no FP (Figura 3B). A β -glicosidase é sintetizada por bactérias, fungos e outros organismos do solo. No entanto, a atividade da enzima parece ter certa independência da população de microrganismos do solo, devido à sua relação com outros componentes do solo, a exemplo da quantidade de argila, o que resulta em maior estabilidade de atividade da enzima. Conforme verificado por Sarkar et al. (1989) e Renz (1997), a adsorção de enzimas extracelulares a partículas de argila é um importante mecanismo de estabilização e proteção de proteases existentes na solução do solo. Harrison (1983) também verificou a mesma tendência. Mesmo assim, a detecção da enzima na avaliação da qualidade do solo está associada ao processo de decomposição, a destacar:

Celulose \rightarrow Celobiose (Atividade de celulase)

Celobiose \rightarrow 2 Glicoses (Atividade de β -glicosidase)

Glicose \rightarrow CO₂ + biomassa microbiana (mineralização do composto)

No solo, particularmente, a síntese de celulase está estritamente relacionada à população de fungos decompositores como *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*, entre outros (SYLVIA et al., 1999; PAUL, 2007). A celobiose pode ser absorvida diretamente pelos microrganismos do solo ou ser, ainda, hidrolizada extracelularmente formando glicose. Em função disso, atividade da enzima tem sido relacionada com o ciclo do carbono do solo, tendo importantes implicações em práticas de manejo (GIL-SOTRES et al., 2005; LAGOMARSINO et al., 2009).

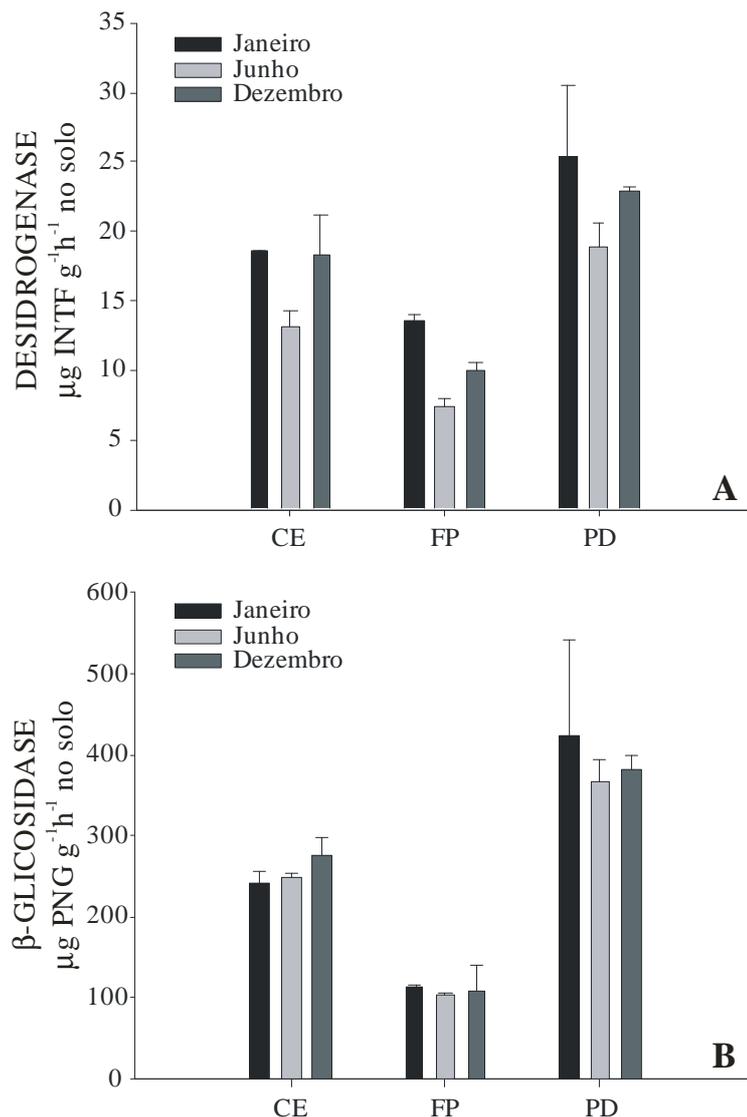


Figura 3. Impacto do uso do solo sob atividade da desidrogenase (A) e β -glicosidase (B), em três épocas de amostragem do solo. As barras representam o desvio padrão (n=3). CE= Cerrado; FP= plantação de Pinus e PD = Plantio Direto

Das atividades bioquímicas, foram as fosfatases que apresentaram maiores variações. Em todos os sistemas e épocas de amostragem, as atividades da fosfatase ácida (pH 4,0) foram superiores às fosfatases neutra e alcalina (pHs 7,0 e 9,0, respectivamente) (Figura 4). Contudo, Rojo et al. (1990) verificaram que a presença da fosfatase ácida é maior em solos ácidos, e a fosfatase alcalina é maior em solos alcalinos. Em sistemas agrícolas no cerrado, entre as fosfatases, as ácidas têm recebido considerável atenção, principalmente em decorrência da predominância de solos ácidos destinados à agricultura (EIVAZI; TABATABAI, 1977). Tarafdard et al. (1981) verificaram que a atividade da fosfatase ácida tem correlação significativa com o

conteúdo de fósforo inorgânico (Pi) no solo, sendo que quanto menor a quantidade de Pi, maior é a atividade da fosfatase ácida (MALACHLAN, 1976). É importante destacar que a atividade de fosfatases no solo é de fundamental destaque, principalmente em ecossistemas naturais, visto que a disponibilização de Pi às plantas é dependente da ciclagem do nutriente no solo.

O sistema PD, independentemente do pH e da época de amostragem do solo, favoreceu à ocorrência de maiores valores da atividade da fosfatase (Figura 4), o que pode estar associado às condições favoráveis que este sistema de uso do solo apresenta comparativamente aos sistemas CE e FP.

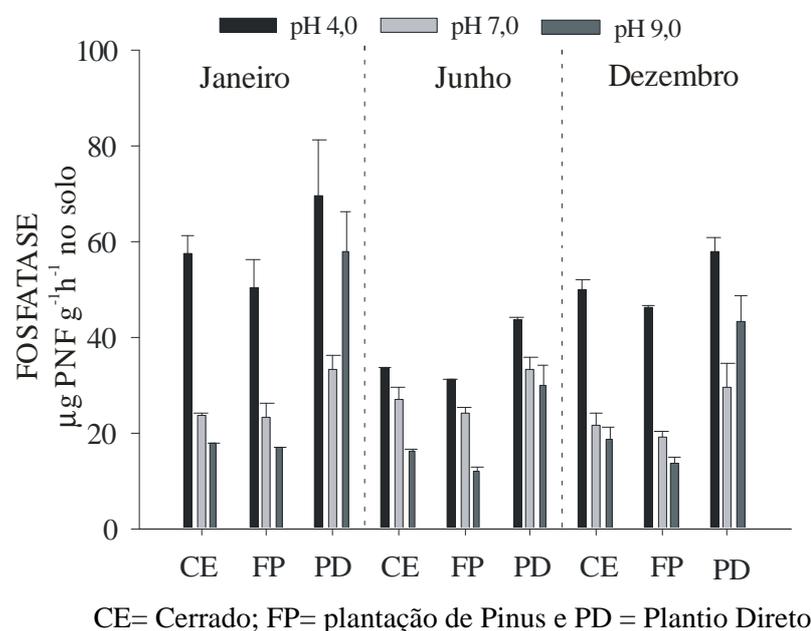


Figura 4. Impacto do uso do solo sob atividade da fosfatase, em três épocas de amostragem.

3.4 Análise de componentes principais (ACP)

A Figura 5 representa a análise de componentes principais (ACP), onde se observa a representação, em duas dimensões, da distribuição das áreas de acordo com a época de amostragem do solo analisada (janeiro, junho e dezembro) e os índices microbiológicos: enzimas desidrogenase, β-glicosidase e fosfatase, CBM, respiração diária, e atributos químicos como pH, COT, N, P, K, Ca, Mg. O resultado da PCA demonstrou, por meio da relação entre componente principal 1 (PC1) e componente principal 2 (PC2), que houve separação entre as áreas estudadas, nas diferentes épocas

do ano. A variabilidade dos dados estudados foram explicados em 50%, pelo PC1, e 49%, pelo PC2. Essa análise foi utilizada para explicar a variação total entre as áreas analisadas conjuntamente entre as três épocas do ano, e os índices químicos e microbiológicos do solo. A ACP representada na figura 5, de acordo com os índices analisados, mostra que se formaram três grupos distintos, conforme o sistema de uso do solo.

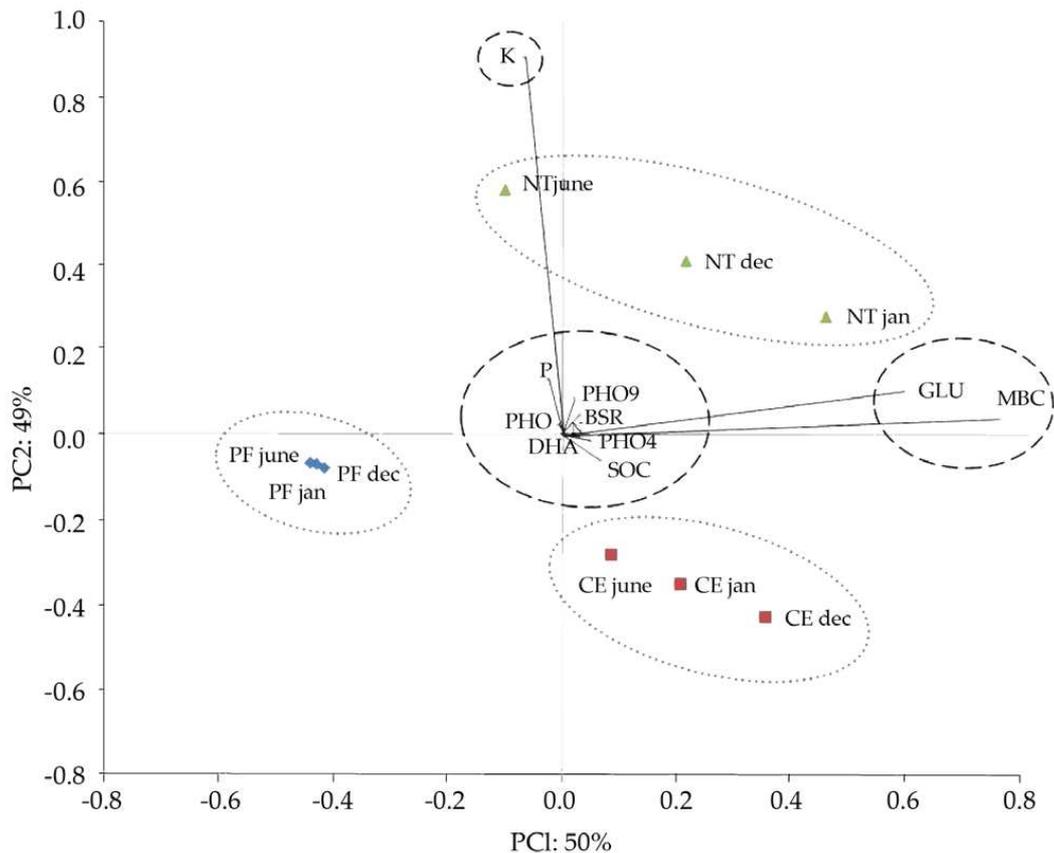


Figura 5. Análise de componentes principais dos sistemas de uso do solo, nas áreas em função das três épocas de amostragem do solo correspondentes a Jan: janeiro, Jun: junho e Dez: dezembro, de 2008, considerando quatorze atributos de qualidade do solo (enzimas desidrogenase, β -glicosidase, fosfatase ácida, neutra e alcalina, CBM, COT, respiração diária, pH, N, P, K, Ca e Mg). CE: Cerrado; FP: Pinus e PD: Plantio Direto.

As áreas sob plantio direto (PD) em janeiro e dezembro e cerrado (CE) tiveram correlação positiva, e a variabilidade total é explicada pelos dois componentes de forma similar. A área de plantação de Pinus (FP) obteve correlações negativas, e o CE, no mês de junho, apresentou a mesma tendência. Isso pode ser explicado pelas variáveis como CBM, P e β -glicosidase, que apresentaram valores maiores em PD e CE, em relação à FP (Tabela 2 e Figuras 1 e 2) e se mostraram mais relevantes na separação entre as áreas

estudadas. O PD, no mês de junho, não se agrupou aos dados de PD em janeiro e dezembro, se separando de todas as outras áreas, indicando a influência da época de amostragem do solo para este sistema de uso, quando se trabalha com ACP. A FP obteve apenas correlações negativas para todos os atributos avaliados, e foi a área que mais se distanciou de CE e PD, devido provavelmente aos menores valores encontrados nos atributos analisados.

Os diferentes sistemas de uso do solo refletiram em alterações dos indicadores biológicos e bioquímicos do solo. Em geral, o PD refletiu em aumentos de valores nos indicadores de funcionalidade usados neste trabalho, em comparação com os sistemas CE e PD. As diferenças entre os sistemas refletem provavelmente na qualidade do solo, mostrando as perdas e os impactos de uso do solo.

Os indicadores analisados foram capazes de revelar diferenças entre os sistemas de uso em estudo, que não teriam sido observadas com o uso somente das análises físicas e químicas do solo, principalmente entre o CE e FP.

4. CONCLUSÕES

1. Os sistemas de uso do solo e as épocas de amostragem do solo afetaram os indicadores biológicos e as formas de carbono orgânico do solo.
2. Dentre os sistemas de uso do solo, o PD se destacou apresentando valores superiores de atividade respiratória, COT, CBM e atividade da desidrogenase, β -glicosidase e fosfatase.
3. Em todos os sistemas e épocas de amostragem, a atividade da fosfatase ácida (pH 4,0) foi superior às fosfatases neutra e alcalina (de pH 7,0 e 9,0 respectivamente), sendo os valores de PD superiores aos observados em CE e FP.
4. O uso de indicadores microbianos e bioquímicos mostraram ser sensíveis às variações do uso do solo, sendo, portanto, indicados em estudos dessa natureza.
5. A análise de componentes principais (ACP) revelou que o sistema PD, por intermédio da avaliação conjunta dos indicadores microbiológicos e químicos do solo, foi superior aos sistemas CE e, principalmente FP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, A.M.X.; VALE, H.M.M.; FERREIRA, E.M.; CORDERO, A.F.P.; BARROS, N.F.; COSTA, M.D. Atividade microbiana de solo e serapilheira em áreas povoadas com *Pinus elliottii* e *Terminalia ivorensis*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, p. 2709-2716, 2008.

CHAVES, R. Q.; CORRÊA, G. F. Macronutrientes no sistema solo - *Pinus caribaea Morelet* em plantios apresentando amarelecimento das acículas e morte de plantas. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 29, p. 691-700, n. 5, 2005.

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

DORAN, J.W., SARRANTONIO, M.; JANKE, R. Strategies to promote soil quality and health. In: PANKHURST, C.E., et al. (Ed.). **Soil Biota: Management in Sustainable Farming Systems**. CSIRO Information, Melbourne, p. 230–236, 1994.

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

EIVAZI, F.; TABATABAI, M.A. Phosphatases in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 9, p. 167-172, 1977.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro, 1997, 212 p.

EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. **Levantamento de reconhecimento de média intensidade e avaliação da aptidão agrícola das terras da área do Triângulo Mineiro**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-SNLCS/EPAMIG-DRNR, 1982. 526p. (EMBRAPA-SNLCS. Boletim de Pesquisa, 1).

GIL-SOTRES, F.; TRASAR-CEPEDA, C.; LEIROS, M.C.; SEOANE, S. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 37, p. 877–887, 2005.

GRANIER, A.; CESCHIA, E.; DAMESIN, C.; DUFRÊNE, E.; EPRON, D.; GROSS, P.; LEBAUDE, S.; LE DANTEC, V.; LE GOFF, N.; LEMOINE, D.; LUCOT, E.;

OTTORINI, J.; PONTAILLER, J.; SAUGIER, B. The carbon balance of a young Beech forest, **Functional Ecology**, Oxford, v.14, p. 312–325, 2000.

HARRISON; A.F. **Soil organic phosphorus**: a review of world literature. Commonwealth Agricultural Bureau International, Wallingford, 1983.

LAGOMARSINO, A.; MOSCATELLI, M.C.; DI TIZIO, A.; MANCINELLI, R.; GREGO, S.; MARINARI, S. Soil biochemical indicators as a tool to assess the short-term impact of agricultural management on changes in organic C in a Mediterranean environment. **Ecological Indicators**, Tempe, Arizona, v. 9, p. 518-527, 2009.

LAL, R.; BLUM, W.H.; VALENTINE, C.; STEWART, B. **Advances in soil Science**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1998, 558 p.

LAL, R. **Soil quality and soil erosion**. Soil and Water Conservation Society, Boca Raton: CRC Press, 1999, 329p.

LEE, X.H.; WU, H.J.; SIGLER, J.; OISHI, C.; SICCAMI, T. Rapid and transient response of soil respiration to rain. **Global Change Biology**, Oxford, v. 10, p. 1017–1026, 2004.

LIU, B.; TU, C.; HU, S.; GUMPERTZ, M.; RISTAINO, J. B. Effect of organic, sustainable, and conventional management strategies in grower fields on soil physical, chemical, and biological and the incidence of Southern blight. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 37, p. 202-214, 2007.

MALACHLAN, K.D. Comparative phosphorus responses in plants to a range of available phosphorus situation. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, Australia, v. 27, p. 232-241, 1976.

MENDONÇA, E.S. Oxidação da matéria orgânica e sua relação com diferentes formas de alumínio de Latossolos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 19, p. 25-30, 1995.

NANNIPIERI, P.; GREGO, S.; CECCANTI, B. Ecological significance of the biological activity in soil. In: BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. (Ed.). **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 6, New York, Marcel Dekker, 1990, p. 293-355.

NANNIPIERI, P.; LANDI, L.; BADALUCCO, L. La capacità metabólica e la qualità del suolo, **Agronomia**, Guatemala, v. 29, p. 312–316, 1995.

O'CONNEL, A. M.; SANKARAN, K. V. Organic matter, accretion, de composition and mineralization. In: NAMBIAR, E. K. S.; BROWN, A. G. (Ed.). **Management of soil nutrients and water in tropical plantations forests**. ACIAR, 1997, p. 443-479.

PANKHURST, C.E., ROGERS, S.L.; GUPTA, V.V.S.R. Microbial parameters for monitoring soil pollution. In: LYNCH, J.M.; WISEMAN, A. (Ed.). **Environmental biomonitoring: the biotechnology ecotoxicology interface**. Cambridge Univ.Press/OCDE, Cambridge, 1998, p. 46-69.

PAUL, E.A. **Soil microbiology, ecology, and biochemistry**. 3th. ed., New York, Academic Press, 2007, 516p.

PÉREZ-DE-MORA, A.; MADEJÓN, E.; CABRERA, F.; BUEGGER, F.; FUß, R.; PRITSCH, K.; SCHLOTTER, M. Long-term impact of acid resin waste deposits on soil quality of forest areas II. Biological indicators. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 406, p. 99-107, 2008.

RENZ, T. **Influence of land use on microbial parameters and phosphatase activity in Cerrado oxisols**. 1997. 72f. Dissertação (Mestrado)-University Bayreuth, Bayreuth, 1997.

ROJO, M.J.; CARCEDO, S.G.; MATEOS, M.P. Distribution and characterization of phosphatase and organic phosphorus in soil fractions. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 22, p. 169-174, 1990.

SARKAR, J.; LEONOWICZ, A.; BOLLAG, J.M. Immobilization of enzymes on clays and soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 21, p. 223- 230, 1989.

SCHLESINGER, W.H.; ANDREWS, J.A. Soil respiration and the global carbon cycle. **Biogeochemistry**, Dordrecht, Holanda, v. 48, p. 7-20, 2000.

SILVA, J.E.; LEMAINSKI, J.; RESCK, D.V.S. Perdas de matéria orgânica e suas relações com a capacidade de troca catiônica em solos da região de cerrados do oeste baiano. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 18, p. 541-547, 1994.

STEVENSON, J.F. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2. ed. New York : John Wiley & Sons, 1994, 496p.

STOTZKY, G. Microbial respiration. In: BLACK, C.A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison, Am. Soc. Agr., v. 2, p. 1550-1570, 1965.

SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. **Principles and applications of soil microbiology**. New Jersey, Prentice Hall, 1999, 550p.

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

TARAFDARD, J.C.; ROY, A.B.; MANDALAK, G. Enzyme status of some jute-growing soils of west Bengal. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, Australia, v. 2, p. 181-184, 1981.

TEDESCO, M.J.; BOHNEM, H.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995, 174 p. (Boletim Técnico, 5).

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, MC.; SEOANE, S.; GIL-SOTRES, F. Biochemical properties of soils under crop rotation. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 39, p. 133-143, 2008.

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

VANHALA, P.T.; AHTIAINEN, J.H. Soil respiration, ATP content, and Photobacterium toxicity test as indicators of metal pollution in soil. **Environmental Toxicology and Water Quality**, New York, v. 9, p. 115–121, 1994.

VISSER, S.; PARKINSON, D. Soil biological criteria as indicators of soil quality: Soil microorganisms. **American Journal of Alternative Agriculture**, Greenbelt, v. 7, p. 33-37, 1997.

VON MERSE, W.; SCHINNER, F. An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with idonitrotetrazolium chloride. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 11, p. 216-220, 1991.

WANG, Q.K.; WANG, S.L.; LIU, Y.X. Responses to N and P fertilization in a young *Eucalyptus dunnii* plantation: Microbial properties, enzyme activities and dissolved organic matter. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 40, p. 484-490, 2008.

YEOMANS, J.; BREMMER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 19, p. 1467-1476, 1989.