



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**AVANÇOS NOS ESTUDOS DE INTERPRETAÇÃO DE INDICADORES  
MICROBIOLÓGICOS NOS LATOSSOLOS ARGILOSOS DE CERRADO**

**LEANDRO MORAES DE SOUZA**

**TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA**

**BRASÍLIA/DF**

**Maior/2016**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**Avanços nos estudos de interpretação de indicadores  
microbiológicos nos Latossolos argilosos de Cerrado**

**LEANDRO MORAES DE SOUZA**

**ORIENTADORA: MARILUSA PINTO COELHO LACERDA**  
**CO-ORIENTADORA: IEDA DE CARVALHO MENDES**

**TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA**

**PUBLICAÇÃO: 042D/2016**

**BRASÍLIA/DF**  
**Mai/2016**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

## AVANÇOS NOS ESTUDOS DE INTERPRETAÇÃO DE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS NOS LATOSSOLOS ARGILOSOS DE CERRADO

LEANDRO MORAES DE SOUZA

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM AGRONOMIA COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À  
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM AGRONOMIA.

APROVADA POR:

---

**MARILUSA PINTO COELHO LACERDA (ORIENTADORA);** Presidente da banca; PhD;  
Professora Associada III (UnB); CPF: 434.760.586-20; E-mail: [marilusa@unb.br](mailto:marilusa@unb.br)

---

**CÍCERO CÉLIO DE FIGUEIREDO (EXAMINADOR INTERNO);** PhD; Professor Adjunto IV  
(UnB); CPF: 029.754.447-02; Email: [cicerocf@unb.br](mailto:cicerocf@unb.br)

---

**ALESSANDRA MONTEIRO DE PAULA (EXAMINADORA INTERNA);** PhD; Professora  
Adjunta III (UnB); CPF: 820.032.201-78; Email: [alessandramp@unb.br](mailto:alessandramp@unb.br)

---

**GUILHERME MONTANDON CHAER (EXAMINADOR EXTERNO);** PhD; Pesquisador;  
Embrapa Agrobiologia; CPF: 035.580.036-59; E-mail: [guilherme.chaer@embrapa.br](mailto:guilherme.chaer@embrapa.br)

---

**ROBÉLIO LEANDRO MARCHÃO (EXAMINADOR EXTERNO),** PhD; Pesquisador;  
Embrapa Cerrados; CPF: 861.160.701-59; E-mail: [robelio.marchao@embrapa.br](mailto:robelio.marchao@embrapa.br)

**BRASÍLIA/DF, 31 de maio de 2016.**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Souza, Leandro Moraes

Avanços nos estudos de interpretação de indicadores microbiológicos nos Latossolos argilosos de Cerrado / Leandro Moraes de Souza; Orientação de Marilusa Pinto Coelho Lacerda; Co-orientação de Ieda de Carvalho Mendes - Brasília, 2016.

177p. : il.

Tese de Doutorado (D) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

1. Carbono da biomassa microbiana. 2. Nitrogênio da biomassa microbiana. 3.  $\beta$ -glicosidase. 4. Arilsulfatase. 5. Fosfatase ácida. 6. Desidrogenase. 7. Fosfatase alcalina. 8. Urease. 9. FDA 10. Bioindicadores. 11. Secagem do solo.

I. Lacerda, M.P.C. II. PhD.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SOUZA, L.M. **Avanços nos estudos de interpretação de indicadores microbiológicos nos Latossolos argilosos de Cerrado**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 165 p. Tese de Doutorado.

## CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Leandro Moraes de Souza

TÍTULO DA TESE: Avanços nos estudos de interpretação de indicadores microbiológicos nos Latossolos argilosos de Cerrado.

GRAU: Doutor

ANO: 2016

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta tese de doutorado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

-----  
Nome: Leandro Moraes de Souza

CPF: 726.766.711-20

Endereço. SHCES. Quadra 407, bloco "G", apartamento 104, Cruzeiro Novo, Brasília - DF.

Tel. 8114-7548

Email: [leandroms83@yahoo.com.br](mailto:leandroms83@yahoo.com.br)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceder tudo o que preciso e muito mais. Por estar sempre presente em nossas vidas, nos norteando, protegendo e abençoando em todos os momentos.

Aos meus pais por todo amor, apoio, auxílio, paciência e dedicação. Agradeço, ainda, pela base familiar de compaixão, harmonia, perseverança e honestidade.

Ao meu irmão, Lui, por ser o principal responsável pelo meu ingresso na Universidade. Nada do que conquistei seria possível sem seus conselhos e incentivos.

À Fernanda Rodrigues pelo apoio incondicional, carinho, amor e dedicação, como namorada, amiga e companheira, por todos os momentos de paciência, zelo e alegria.

Ao Comitê Orientador deste trabalho pela oportunidade oferecida, pela confiança depositada e por todo incentivo durante o trabalho.

À Ieda de Carvalho Mendes pela condução desta tese. Obrigado por todas as orientações, por estar sempre presente e por toda a ajuda, sem a qual este trabalho não teria sido finalizado. Agradeço, também, pelo exemplo de dedicação e perseverança.

Ao Djalma Martinhão pelas orientações, pelos conselhos e por toda dedicação para conclusão deste trabalho.

Ao Fábio Bueno, em primeiro lugar, pela amizade e pelas horas de “terapia”. Agradeço, também, pela orientação e paciência e pelos ensinamentos e conselhos.

À Marilusa Lacerda pelas orientações, pelo carinho e por todo conhecimento transmitido desde a graduação.

Ao colega André pela parceria e auxílio em todas as etapas deste trabalho. Além disso, agradeço pela amizade e companheirismo.

À Eudaci por todo apoio laboratorial, obrigado por sua dedicação e afincamento em todas as análises.

Ao Juaci Malaquias por todas as lições em estatística e pelo acompanhamento de todas as etapas da tese.

A Raquel, Lucas, Lídia, Ramon, Yara, Tiago, Clodoaldo, Osmar, Eduardo e todos os amigos do Laboratório de Microbiologia pela amizade e por todo auxílio, desde a coleta até as análises em laboratório.

À Milena pelas palavras de incentivo, pelo carinho, pela paciência e pela presença na defesa.

Ao professor Wenceslau por sua presença e pelas contribuições.

À Professora Lucrécia pelos ensinamentos em microbiologia e pela participação.

Aos participantes da banca, Dr. Cícero C. de Figueiredo, Dr. Guilherme Chaer, Dra. Alessandra Monteiro e Dr. Robélio Marchão, pela disponibilidade e pelas contribuições.

À Embrapa Cerrados e UnB pela oportunidade e apoio.

A todos os amigos pelos incentivos e pelas contribuições com este trabalho.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO GERAL</b> .....	<b>xix</b>
<b>THESIS ABSTRACT</b> .....	<b>xxi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
2.1. OBJETIVO GERAL .....	3
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	4
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>5</b>
3.1. SOLO, AGRICULTURA E O CERRADO .....	5
3.2. QUALIDADE DE SOLOS, SEUS ÍNDICES E INDICADORES .....	6
3.3. COMO INTERPRETAR OS ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS? .....	10
3.4. VARIAÇÕES SAZONAIS, PRÉ-TRATAMENTOS E O DESAFIO DA UNIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	12
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO 1:</b> .....	<b>25</b>
<b>EFEITOS DA ÉPOCA DE AMOSTRAGEM E DA SECAGEM DO SOLO AO AR NA ATIVIDADE DAS ENZIMAS ARILSULFATASE, <math>\beta</math>-GLICOSIDASE E FOSFATASE ÁCIDA</b> .....	<b>25</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>26</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>27</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>28</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
2.1. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E QUÍMICAS .....	35
2.2. ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	35
2.3. NOVAS TABELAS DE INTERPRETAÇÃO USANDO O CONCEITO FERTBIO .....	37

<b>3. RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>
3.1. FLORAÇÃO/SOLO ÚMIDO X PÓS-COLHEITA/SOLO SECO (FERTBIO) 38	
3.2. PÓS-COLHEITA/SOLO ÚMIDO X PÓS-COLHEITA/SOLO SECO (FERTBIO).....	51
3.3. VARIAÇÃO INTERANUAL DOS ATRIBUTOS.....	56
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	<b>59</b>
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	<b>64</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>65</b>
<b>CAPÍTULO 2:</b> .....	<b>70</b>
<b>TABELAS DE INTERPRETAÇÃO PARA O CARBONO E NITROGÊNIO DA BIOMASSA MICROBIANA E PARA AS ENZIMAS DESIDROGENASE, FOSFATASE ALCALINA, UREASE E FDA</b> .....	<b>70</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>71</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>73</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>75</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>79</b>
2.1. CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS EXPERIMENTAIS.....	79
2.3.1. Carbono e Nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM).....	83
2.3.2. Atividade da enzima urease .....	84
2.3.3. Atividade da enzima desidrogenase .....	85
2.3.4. Atividade da enzima fosfatase alcalina.....	86
2.3.5. Atividade enzimática total (FDA).....	86
2.3.6. Carbono orgânico do solo (COS).....	87
2.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	88
2.5. INTERPRETAÇÃO DOS ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS .....	89
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>90</b>



3.1. CBM, NBM, DESIDROGENASE, FOSFATASE ALCALINA, UREASE E FDA EM SOLOS CULTIVADOS E ÁREAS DE CERRADO .....	90
3.2. TABELAS DE INTERPRETAÇÃO: FLORAÇÃO/SOLO ÚMIDO E PÓS-COLHEITA/SOLO SECO .....	97
3.3. ÉPOCA DE COLETA E PRÉ-TRATAMENTO DO SOLO .....	109
3.4. VARIAÇÃO INTERANUAL DOS ATRIBUTOS.....	114
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>119</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>120</b>
<b>CAPÍTULO 3:.....</b>	<b>136</b>
<b>CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA EM LATOSSOLOS DETERMINADO POR OXIDAÇÃO ÚMIDA E COMBUSTÃO A TEMPERATURA ELEVADA.....</b>	<b>136</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>137</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>138</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>139</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>141</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>146</b>
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>156</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>156</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>162</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>165</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>166</b>
ANEXO A: DETALHAMENTO DOS EXPERIMENTOS ANALISADOS.....	167
ANEXO B: UMIDADE DAS AMOSTRAS .....	170
ANEXO C: DADOS METEREOLÓGICOS .....	176

## ÍNDICE DE FIGURAS:

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>Figura 1 - Modelo conceitual de conversão de um conjunto de indicadores em um índice de qualidade (Karlen et al., 2003).....</b>	<b>8</b>
<b>CAPÍTULO 1:.....</b>	<b>25</b>
<b>Figura 1 – Coleta de solo efetuada com auxílio de trado-holandês (esquerda) e parcela do experimento após coleta das amostras (direita).....</b>	<b>31</b>
<b>Figura 2 - Imagem dos três experimentos, obtida com auxílio do software Google Earth, na época de floração (A) e após a colheita do milho (B). A área tracejada em azul corresponde ao experimento I, em amarelo, ao experimento II e, em vermelho, ao experimento III.....</b>	<b>34</b>
<b>Figura 3 - Atividade enzimática em amostras coletadas na floração/solo úmido, pós-colheita/solo úmido e pós-colheita/solo seco. Linhas sólidas, pontilhadas e as barras representam as medianas, médias, e os 10° e 90° percentis, respectivamente. Caixas representam os 25° e 75° percentis. Os pontos representam as médias dos tratamentos que ficaram abaixo do 10° percentil e acima do 90° percentil.....</b>	<b>42</b>
<b>Figura 4 - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase (A), β-glucosidase (B) e fosfatase ácida (C) determinadas nas fases de floração/solo úmido e na pós-colheita/solo seco, nos anos e 2013 e 2015. A figura D mostra as relações entre os teores de COS determinados nas duas épocas. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. ***Significativo a P &lt; 0,001. Valores de atividade de β-glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em µg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup> . Carbono orgânico do solo (COS) expresso em g kg<sup>-1</sup>.....</b>	<b>43</b>

**Figura 5** - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida com o COS (A, B e C) e com o RRA (D, E e F), determinadas na fase pós-colheita/solo seco, nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Valores de atividade de  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ . .....45

**Figura 6** - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida com o COS (A, B e C) e com o RRA (C, D e E), determinadas na fase floração/solo úmido, nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Valores de atividade de  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ . .....46

**Figura 7** - Relações entre o rendimento relativo acumulado de grãos (RRA) e carbono orgânico do solo (COS), determinadas com base nas amostras FERTBIO (A) e coletadas na fase de floração/solo úmido (B), nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ .....50

**Figura 8** - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida, determinadas nas fases de pós-colheita/solo úmido e na pós-colheita/solo seco, nos anos 2013 e 2015. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Valores de atividade de  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ . .....54

<b>Figura 9</b> - Atividade enzimática e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem floração/solo úmido. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão. ....	56
<b>Figura 10</b> - Atividade enzimática e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem pós-colheita/solo seco. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão. ....	57
<b>CAPÍTULO 2:</b> .....	<b>70</b>
<b>Figura 1</b> - Foto de uma das áreas de Cerrado onde foram feitas as coletas de solo sob vegetação nativa (esquerda) e furo deixado onde a coleta foi efetuada com trado-holandês com 5 cm de diâmetro (direita). ....	81
<b>Figura 2</b> – Fotos realizadas durante as coletas de solo na floração (esquerda) e pós-colheita do milho (direita). ....	82
<b>Figura 3</b> - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o RRA determinadas na fase floração/solo úmido. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. ***Significativo a $P < 0,001$ . Ns = não significativo. ....	98
<b>Figura 4</b> - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o COS determinadas na fase floração/solo úmido. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. ***Significativo a $P < 0,001$ . Ns = não significativo. ....	99
<b>Figura 5</b> - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o RRA determinadas na fase pós-colheita/solo seco. Os	

pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Ns = não significativo..... 101

**Figura 6** - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o COS determinadas na fase pós-colheita/solo seco. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Ns = não significativo..... 102

**Figura 7** - Relações entre o rendimento relativo acumulado de grãos (RRA) e o carbono orgânico do solo (COS), determinadas com base nas amostragens pós-colheita/solo seco (A) e floração/solo úmido (B) nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ ..... 103

**Figura 8** - CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA em amostras coletadas na floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco. Linhas sólidas, pontilhadas e as barras representam as medianas, médias, e os 10° e 90° percentis, respectivamente. Caixas representam os 25° e 75° percentis. Os valores de cada bioindicador são expressos em: NBM – mg N kg<sup>-1</sup> solo; Urease - µg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>; Desidrogenase – mg TPF kg<sup>-1</sup> solo 24 h<sup>-1</sup>; Fosfatase Alcalina - µg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>; FDA – mg fluoresceína kg<sup>-1</sup> solo 3 h<sup>-1</sup>. Os pontos representam as médias dos tratamentos que ficaram abaixo do 10° percentil e acima do 90° percentil..... 110

**Figura 9** - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA determinadas nas fases de floração/solo úmido e na pós-colheita/solo seco, nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Os valores de cada bioindicador são expressos em: NBM – mg N kg<sup>-1</sup> solo; Urease - µg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> g<sup>-1</sup> solo

$h^{-1}$ ; Desidrogenase –  $mg\ TPF\ kg^{-1}\ solo\ 24\ h^{-1}$ ; Fosfatase Alcalina -  $\mu g$  de p-nitrofenol  $g^{-1}\ solo\ h^{-1}$ ; FDA –  $mg\ fluoresceína\ kg^{-1}\ solo\ 3\ h^{-1}$  ..... 113

**Figura 10** - CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem floração/solo úmido. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão..... 115

**Figura 11** - CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem pós-colheita/solo seco. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão..... 116

**CAPÍTULO 3:**..... **136**

**Figura 1** - Relação entre o C-orgânico extraído das amostras fumigadas e não fumigadas determinados por oxidação úmida e combustão em alta temperatura (A) e “boxplot” com a distribuição desses valores (B), em que o ponto inferior refere-se ao menor valor encontrado, o ponto superior representa o maior valor encontrado, a linha contínua representa a mediana e a linha tracejada refere-se à média. Os pontos (A) representam os valores das três repetições de cada um dos 32 tratamentos. \*\*,  $p < 0,0001$ . ..... 149

**Figura 2** - Relação entre o carbono da biomassa microbiana determinado por oxidação úmida e combustão em alta temperatura. Os pontos representam os valores das três repetições de cada um dos 32 tratamentos analisados. \*\*,  $p < 0,0001$ . ..... 154

<b>ANEXOS</b> .....	<b>166</b>
<b>Figura C.1</b> - Pluviosidade mensal acumulada observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).....	176
<b>Figura C.2</b> - Radiação mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).....	176
<b>Figura C.3</b> - Temperatura mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).....	177
<b>Figura C.4</b> - Umidade relativa mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).....	177

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>CAPÍTULO 1:</b> .....	<b>25</b>
<b>Tabela 1</b> - Descrição dos 24 tratamentos selecionados dos experimentos I, II e III e valores acumulados dos diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e milho (RAG). .....	32
<b>Tabela 2</b> - Atividade enzimática e carbono orgânico do solo, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015, na fase de floração/solo úmido.....	40
<b>Tabela 3</b> - Atividade enzimática e carbono orgânico do solo, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015 na fase pós-colheita/solo seco. ....	41
<b>Tabela 4</b> - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de carbono orgânico do solo, utilizando o conceito de amostra FERTBIO (pós-colheita/solo seco). ....	47
<b>Tabela 5</b> - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de matéria orgânica do solo, com amostras coletadas na floração/solo úmido. ....	48
<b>Tabela 6</b> - Atividade enzimática, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015 na fase pós-colheita/solo úmido. ....	53



<b>Tabela 7</b> - Atividade enzimática de um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado antes e após a secagem ao ar. Amostragem realizada na fase pós-colheita, na camada de 0 - 10 cm Os dados representam médias de dois anos (2013 e 2015). .....	55
<b>Tabela 8</b> - Contribuição (%) dos fatores tratamento, ano e de sua interação na variância total das enzimas $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida e no carbono orgânico do solo (COS) nas amostragens realizadas nas fases floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco.....	58
<b>CAPÍTULO 2:</b> .....	<b>70</b>
<b>Tabela 1</b> - Descrição dos 24 tratamentos selecionados dos experimentos I, II e III e valores acumulados dos diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e milho (RAG). .....	80
<b>Tabela 2</b> - Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana ( $\text{mg kg}^{-1}$ solo), em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0 - 10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015 nas fases floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco. .....	94
<b>Tabela 3</b> - Atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e urease em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015, na fase de floração/solo úmido.....	95
<b>Tabela 4</b> - Atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e urease em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015, na fase de pós-colheita/solo seco. ....	96

<b>Tabela 5</b> - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de matéria orgânica do solo, com amostras coletadas na floração/solo úmido. ....	107
<b>Tabela 6</b> - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de matéria orgânica do solo, com amostras coletadas na pós-colheita/solo seco. ....	108
<b>Tabela 7</b> - Contribuição (%) dos fatores tratamento, ano e de sua interação, na variância total do CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA, nas amostragens realizadas nas fases floração/solo úmido e pós-colheita/ solo seco. ....	118
<b>CAPÍTULO 3:</b> .....	<b>136</b>
<b>Tabela 1</b> - Atributos químicos das amostras de solo dos experimentos avaliados. ....	144
<b>Tabela 2</b> - Carbono orgânico das amostras fumigadas e não fumigadas determinados por oxidação úmida e combustão em alta temperatura dos 32 tratamentos avaliados. ....	150
<b>Tabela 3</b> - Carbono da biomassa microbiana determinado por oxidação úmida e combustão em alta temperatura dos 32 tratamentos avaliados. ....	151

<b>ANEXOS</b> .....	<b>166</b>
<b>Tabela A.1</b> - Análises químicas e granulométricas do solo das três áreas experimentais, na camada de 0 a 20 cm, antes da implantação dos experimentos. ....	167
<b>Tabela A.2</b> - Mineralogia <sup>1</sup> do solo, na camada de 40 a 60 cm, antes da implantação dos experimentos (Nunes, 2014).....	169
<b>Tabela B.1</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de floração/solo úmido.....	170
<b>Tabela B.2</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de floração/solo úmido.....	171
<b>Tabela B.3</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de pós-colheita/solo úmido. ....	172
<b>Tabela B.4</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de pós-colheita/solo úmido. ....	173
<b>Tabela B.5</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de pós-colheita/solo úmido, após a secagem ao ar (pós-colheita/solo seco). ....	174
<b>Tabela B.6</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de pós-colheita/solo úmido, após a secagem ao ar (pós-colheita/solo seco). ....	175

## RESUMO GERAL

A interpretação dos valores individuais dos atributos microbiológicos tem sido um dos principais entraves encontrados por pesquisadores para se utilizar os bioindicadores, rotineiramente, em análises sobre o funcionamento da maquinaria biológica do solo. Aproveitando um gradiente de matéria orgânica do solo e rendimento acumulado de grãos de soja e de milho, estabelecidos em um experimento de longa duração, em função de diferentes doses e modos de aplicação de fósforo - P, esta tese de doutorado deu continuidade aos trabalhos de interpretação de bioindicadores, iniciados por Lopes et al., (2013), nos Latossolos argilosos de Cerrado. O principal objetivo foi o de ampliar as tabelas de interpretação dos bioindicadores, com amostras de solo coletadas não só na fase de floração das culturas, mas também, após a colheita das mesmas. Além disso, também foi avaliada, para diferentes atributos microbiológicos (carbono e nitrogênio na biomassa microbiana (CBM e NBM) e enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase, fosfatase ácida, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA), a possibilidade de unificação da época de coleta de solo e dos processos de pré-tratamento das amostras de microbiologia e fertilidade de solo (peneiramento a 2 mm e secagem ao ar), gerando o conceito de amostragem FERTBIO. As avaliações foram conduzidas em 2013 e 2015, na fase de floração, com solo úmido, e na fase de pós-colheita, com solo seco ao ar. Além da boa adequação à amostragem realizada na pós-colheita/solo seco, observou-se uma baixa variabilidade anual das enzimas arilsulfatase e  $\beta$ -glicosidase (capítulo 1) bem como do CBM e da desidrogenase (capítulo 2) nas duas épocas de amostragem. No caso específico das enzimas  $\beta$ -

glicosidase e arilsulfatase, essas características, aliadas aos estudos que comprovam sua eficácia no monitoramento de áreas agrícolas, facilitam a adoção desses bioindicadores, em análises comerciais de solo, como parâmetros indicadores do seu biofuncionamento. O NBM e o ensaio de FDA não foram eficientes como bioindicadores capazes de diferenciar os tratamentos e não tiveram suas variações associadas ao rendimento acumulado de grãos e ao carbono orgânico do solo, impossibilitando a delimitação de classes de suficiência. Com exceção da enzima urease, a amostragem realizada na pós-colheita/solo seco promoveu reduções significativas na atividade de todos bioindicadores avaliados, tendo como consequência, o estreitamento na amplitude das classes de interpretação baixo/adequado. O ensaio de hidrólise de FDA foi o único parâmetro para o qual a amostragem pós-colheita/solo seco não foi representativa da amostragem floração/solo úmido. Em um outro estudo, observou-se relação linear positiva e significativa entre os teores de C orgânico da biomassa microbiana determinados pelos métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura. O método de combustão a alta temperatura detectou, em média, 6,3% mais C orgânico do que o método por oxidação úmida. A equação  $y = 0,938(x)$  deve ser utilizada para conversão dos valores de CBM, determinados por combustão a alta temperatura (x), em valores determinados pelo método de oxidação úmida (y), para Latossolos argilosos de Cerrado.

**Palavras chaves:** carbono da biomassa microbiana, nitrogênio na biomassa microbiana,  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase, fosfatase ácida, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease, FDA, bioindicadores, secagem do solo.

## THESIS ABSTRACT

The interpretation of individual values of microbiological attributes has been one of the main constraints limiting the use of bioindicators, in commercial soil analysis. Taking advantage of a soil organic matter gradient, established on a long-term experiment, due to the application of various doses and placement methods of P-fertilizers, this doctoral thesis continued the research of interpretation of biological indicators, started by Lopes et al., (2013), in a clayey Cerrado Oxisol. The main objective was to generate interpretation tables for biological indicators with soil samples collected not only at the crop flowering stage, but also at the post-harvest stage. We also evaluated, for different microbiological attributes (carbon and nitrogen in the microbial biomass (MBC and MBN) and  $\beta$ -glucosidase, arylsulfatase, acid phosphatase, dehydrogenase, alkaline phosphatase, urease and FDA enzymes), the possibility of unifying the sampling procedures for microbiology and fertility, generating the FERTBIO samples (for soil fertility and biology). . During a two-year period (2013 and 2015), soil samples (0 to 10 cm) were collected at the flowering and at the post-harvest stage, in 24 treatments from three long-term experiments. Samples were analyzed to determine their enzyme activities and soil organic carbon (SOC) content. In addition to good adequacy for post-harvest sampling with air-dried soil samples, arylsulfatase and  $\beta$ -glucosidase (chapter 1) and MBC and dehydrogenase (Chapter 2) also presented a low annual variability. These features facilitate their adoption in soil commercial analysis, as indicators of the soil biological functioning. . MBN and FDA were not able to differentiate the treatments and did not have their variances associated with the RCY and SOC, preventing the delimitation

of sufficiency classes. With the exception of urease,. air-drying of soil samples at the post-harvest stage promoted significant reductions for all bioindicators evaluated. As a consequence a reduction in the range of low/adequate interpretation classes occurred. FDA was the only parameter for which the air-dried/post-harvest sampling did not represent the field-moist/flowering stage sampling. In a study presented in Chapter 3 we observed a significant positive linear relationship between the organic carbon content of the microbial biomass determined by wet oxidation and combustion at high temperature methods. The combustion at high temperature method detected on average 6.3% more organic C than the wet oxidation method. The equation  $y = 0.938 (x)$  must be used for conversion of MBC values determined by combustion at high temperature (x) in values determined by wet oxidation method (y) for the clayey Cerrado Oxisols.

**Keywords:** microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen,  $\beta$ -glucosidase, arylsulfatase, acid phosphatase, dehydrogenase, alkaline phosphatase, urease, FDA, bioindicators, air-drying.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Práticas agrícolas de manejo de solo que favoreçam o funcionamento da maquinaria biológica são fundamentais devido a seu envolvimento na dinâmica da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, decomposição de resíduos vegetais e formação da estrutura do solo (Acosta-Martínez et al., 2008). Porém, diferente do que ocorre com os indicadores químicos de fertilidade, cujos níveis (baixo, médio, adequado e alto) já estão relativamente bem definidos, é difícil medir e interpretar indicadores microbiológicos, independentemente de um controle ou referencial de comparação (Dick, 1992). A interpretação individual de atributos microbiológicos tem sido um dos principais entraves encontrados por pesquisadores para se utilizar parâmetros microbiológicos rotineiramente em análises sobre o funcionamento da maquinaria biológica do solo.

Aproveitando um gradiente de matéria orgânica do solo e rendimento acumulado de grãos de soja e de milho, estabelecidos em um experimento de longa duração, em função de diferentes doses e modos de aplicação de fósforo - P, Lopes et al. (2013) desenvolveram a primeira estratégia para interpretação de atributos microbiológicos e bioquímicos. Nessa estratégia, foram utilizados os mesmos princípios das curvas de calibração de nutrientes e, como resultado, foram publicadas as primeiras aproximações das tabelas de interpretação de bioindicadores em Latossolos argilosos do Cerrado. Essas tabelas de interpretação, únicas na literatura, estabeleceram, pela primeira vez, níveis críticos para carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração basal e atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, celulase, fosfatase ácida e arilsulfatase.



Entretanto, o trabalho de Lopes et al. (2013) não teve a pretensão de esgotar esse assunto, mas sim, de ser um ponto de partida. Esta tese de doutorado é uma continuação dos trabalhos iniciados por Lopes et al (2013). Aproveitando a valiosa oportunidade oferecida pelos experimentos de longa duração de P, na Embrapa Cerrados, o principal objetivo foi o de ampliar as tabelas de interpretação dos bioindicadores, com amostras de solo coletadas não só na fase de floração das culturas, mas também, após a colheita das mesmas. Além disso, também foi avaliada, para diferentes atributos microbiológicos, a possibilidade de se usar o mesmo pré-tratamento que é utilizado para análises de fertilidade de solo, ou seja, peneiramento a 2 mm e secagem ao ar.

Considerando a grande quantidade de fatores e de atributos microbiológicos envolvidos, a tese foi dividida em três capítulos.

No capítulo 1, foi avaliada a aplicação do conceito de amostra FERTBIO (unificação das épocas de amostragem e do pré-tratamento de amostras de solos para avaliações de fertilidade e microbiologia) para as enzimas de solo:  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida. Essas enzimas vêm sendo utilizadas nos estudos de bioindicadores conduzidos pela Embrapa Cerrados desde 1998 e, devido a sua performance nesses estudos, possuem grande chance de serem recomendadas para utilização nas análises comerciais de solo.

No capítulo 2, considerou-se que os experimentos de longa duração de P, da Embrapa Cerrados, consistem em uma oportunidade tão única e tão valiosa que se aproveitou para também serem geradas tabelas de interpretação para outros bioindicadores, além daqueles que haviam sido objeto de estudos desde 1998. Nesse sentido, foram incluídas as análises de N na biomassa microbiana (NBM) e

análises das enzimas: desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA. O carbono da biomassa microbiana também foi incluído nesse capítulo, pois a metodologia de determinação utilizada foi a de combustão em alta temperatura, em um analisador de C orgânico, diferente da metodologia de oxidação úmida utilizada no trabalho de Lopes et al. (2013). Além de tabelas de interpretação com amostras coletadas na fase de floração, também foram geradas tabelas usando o conceito de amostra FERTBIO.

Por fim, no capítulo 3, é apresentado um estudo específico, conduzido paralelamente aos trabalhos da tese, em que foram comparadas duas metodologias de determinação do carbono orgânico microbiano após sua extração com sulfato de potássio: oxidação úmida e combustão em alta temperatura.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Ampliar as tabelas de interpretação de indicadores microbiológicos para os Latossolos argilosos, da região dos Cerrados, com amostras de solo coletadas não só na fase de floração, mas também, com amostras coletadas após a colheita das culturas e com secagem do solo ao ar.

## 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Avaliar a possibilidade de unificação da época de coleta de solo e dos processos de pré-tratamento das amostras de microbiologia e fertilidade de solo (com secagem à temperatura ambiente e peneiramento em 2 mm), para as determinações do C e do N da biomassa microbiana e também para as seguintes atividades enzimáticas:  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase, fosfatase ácida, urease, desidrogenase, fosfatase alcalina e FDA;
- 2- Gerar tabelas de interpretação para o C e o N da biomassa microbiana e, também, para as atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase, fosfatase ácida, urease, desidrogenase, fosfatase alcalina e FDA utilizando o conceito de amostra FERTBIO (pós-colheita/solo seco ao ar);
- 3- Gerar a segunda aproximação da tabela de interpretação para as atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida e para o carbono da biomassa microbiana, com amostras coletadas na fase de floração/solo úmido, nos anos de 2013 e 2015;
- 4- Gerar a primeira aproximação das tabelas de interpretação para o N da biomassa microbiana, urease, desidrogenase, fosfatase alcalina e FDA com amostras coletadas na fase de floração/solo úmido nos anos de 2013 e 2015;
- 5- Avaliar as relações entre determinações do carbono da biomassa microbiana (CBM) por meio dos métodos de oxidação úmida e combustão em alta temperatura e o uso de fatores de correção entre as duas determinações.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1. SOLO, AGRICULTURA E O CERRADO

O solo é um corpo dinâmico, vivo e natural com funções fundamentais nos ecossistemas terrestres. Os componentes do solo incluem a matéria mineral inorgânica (areia, sedimentos e partículas de argila), matéria orgânica, água, gases e organismos vivos e há um contínuo intercâmbio de moléculas e íons entre as fases sólida, líquida e gasosa, que são mediados pelos processos químicos, físicos e biológicos (Doran et al., 1994). Em síntese, o solo é o resultado das combinações entre o clima, o material de origem, os organismos e o tempo, sendo considerado como o substrato principal da produção de alimentos e uma das principais fontes de nutrientes e sedimentos que vão para os rios, lagos e mares (Resende et al., 2007).

Quando observado como substrato para as plantas, o solo pode ser considerado como reserva, dreno e fonte de nutrientes, à semelhança de um sistema bancário que administra o dinheiro de seus correntistas, guardando-o, protegendo-o, liberando recursos quando solicitados e, de modo muito importante, evitando perdas (Novais & Mello, 2007), sendo, dessa maneira, um dos principais componentes da agricultura.

A agricultura moderna é caracterizada pela busca constante do aumento da produtividade das culturas agrícolas por meio da utilização da mecanização, irrigação, adubação e aplicação de pesticidas, aliadas ao melhoramento dos genótipos vegetais (Zilli et al., 2003). A agricultura brasileira experimentou grande desenvolvimento durante os últimos 100 anos, obtendo aumentos significativos na

produtividade de grande número de culturas, notadamente nas últimas três décadas. Isto se deveu a inovações tecnológicas e à difusão do uso dessas técnicas (Lopes & Guilherme, 2007). O esforço conjunto da pesquisa agropecuária, as ações da assistência técnica e extensão rural, a ampliação do sistema de crédito rural e a participação dos produtores rurais e da agroindústria produziram um fenômeno interno conhecido como “primeiro ciclo da revolução da agricultura tropical no Brasil”, e a ocupação do Cerrado foi uma das principais conquistas desse ciclo (Crestana & Sousa, 2008).

A região dos Cerrados abriga o segundo maior bioma brasileiro, com 204 milhões de hectares, e possui grande destaque no cenário agrícola nacional e mundial, sendo, ao mesmo tempo, uma importante reserva da biodiversidade e potencial produtora de alimentos. Com tecnologia adequada, torna-se possível incorporar ao sistema produtivo até 127 milhões de hectares, mantendo cerca de 38% do Cerrado como reserva natural (Sano et al., 2009). Dessa forma, equacionar os problemas ambientais, relacionados à conservação dos recursos naturais, e proporcionar as condições para que a região dos Cerrados possa atender, de forma sustentável, à demanda crescente por alimentos constituem-se nos principais desafios para a agricultura dessa região no século XXI (Lopes, 2013).

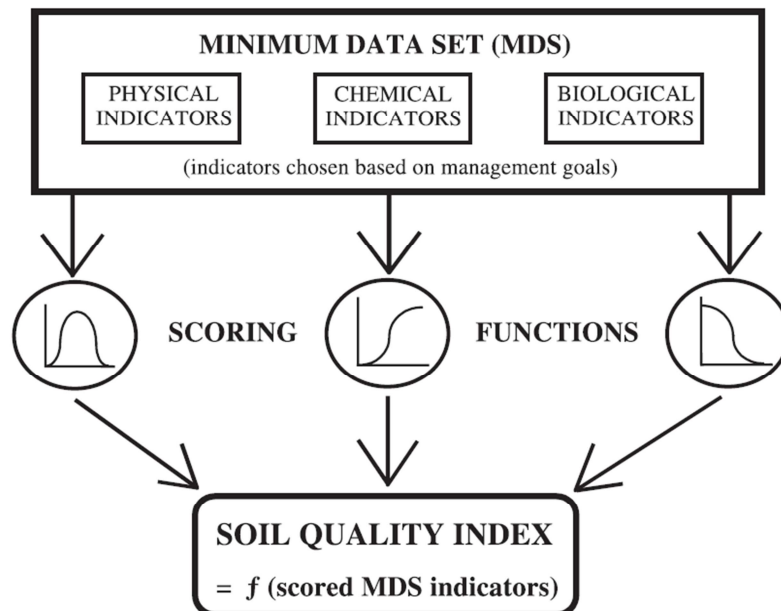
### 3.2. QUALIDADE DE SOLOS, SEUS ÍNDICES E INDICADORES

O tema “Qualidade de solos” foi citado pela primeira vez no trabalho de Alexander (1971), que recomendou o estabelecimento de critérios para a qualidade do solo. Entretanto, o tema só voltou a ganhar força no início dos anos 90, após a

Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos publicar o livro “Soil and Water Quality: An Agenda for Agriculture” (National Research Council, 1993). Isso fez com que a SSSA (Soil Science Society of America) nomeasse 14 representantes para determinar o conceito de qualidade de solos e identificar critérios e métodos para quantificá-la (Karlen et al., 1997). Após várias reuniões e debates, diversos conceitos foram criados (Larson & Pierce, 1991; Parr et al., 1992; Doran & Parkin, 1994; Harris et al., 1996; Doran & Jones, 1996), sendo que a definição mais difundida de qualidade de solo foi proposta por Doran & Parkin (1994), que a conceituaram como sendo a capacidade de esse recurso exercer várias funções, dentro dos limites do uso da terra e do ecossistema, para sustentar a produtividade biológica, manter ou melhorar a qualidade ambiental e contribuir para a saúde das plantas, dos animais e humana. Salienta-se, contudo, que o tema é polêmico e que não existe um consenso (Araújo et al., 2012).

Adotando como verdadeiro o conceito de “Qualidade de Solos” criado por Doran & Parkin (1994), a indagação ainda mais polêmica, e que perdura até hoje, é: como quantificá-la? Quando nos referimos à água e ao ar, o termo qualidade vem associado a análises de contaminantes, que tem valores pré-definidos, não havendo necessidade de se determinar uma dinâmica nem de se quantificar propriedades ecológicas, químicas, físicas e biológicas que definiriam um estado ideal para um número quase ilimitado de cenários ambientais (Sojka & Upchurch, 1999). Por outro lado, quando nos referimos ao solo, a maioria do pensamento em relação à qualidade está focado na identificação de um índice (Vezzani & Mielniczuk, 2009) que pode ser obtido por meio de uma expressão ou modelo matemático que inclua os atributos do solo considerado (Burguer & Kelting, 1999).

De acordo com Acton & Padbury (1994), um índice de qualidade do solo pode ser definido como o conjunto mínimo de parâmetros que, quando interligados, fornece dados numéricos sobre a capacidade do solo para realizar uma ou mais funções. Essa tem sido a principal estratégia utilizada por diversos grupos de pesquisa do mundo inteiro, como Karlen & Stott (1994), Chaer (2001), Andrews et al. (2004), Costa et al. (2006), Melo Filho et al. (2007), Erkossa et al. (2007), Souza (2011), Liu et al. (2014), Nakajima et al, (2015), e outros. Nesses trabalhos, têm-se dado ênfase na integração de indicadores (Figura 1) de maneira a gerar um valor (índice de qualidade do solo) que possa ser comparado entre várias práticas de manejo, ao longo do tempo, em ecossistemas agropecuários e florestais, tática que tem se demonstrado bastante flexível e de relativa facilidade de utilização.



**Figura 1** - Modelo conceitual de conversão de um conjunto de indicadores em um índice de qualidade (Karlen et al., 2003).

Quanto ao seu uso, um índice de qualidade pode ser útil para o monitoramento do estado geral e para a identificação de práticas de manejo mais adequadas, constituindo-se uma ferramenta para buscar soluções técnicas que atuem diretamente nos atributos do solo que estão pesando negativamente no índice de qualidade (Chaer, 2001). Além disso, o índice pode auxiliar no monitoramento de qualidade do solo em programas de recuperação de áreas degradadas e para orientar legislações e políticas relacionadas à ocupação do solo, podendo servir, ainda, como parâmetro de programas e políticas agrícolas bem como um referencial para valoração de terras (Tótola & Chaer, 2002). Isso se torna ainda mais claro quando se é levado em consideração que a qualidade do solo tem interligações com as práticas de manejo do terreno, produtividade e outros aspectos do ecossistema, mostrando uma interdependência controlada por mecanismos de resposta. A qualidade do solo também está conectada à saúde humana, já que o solo pode ser fonte, ou o vetor, de diversas doenças (Zornoza et al., 2015).

De acordo com Doran & Jones (1996), o cálculo do índice de qualidade do solo parte da definição de indicadores de qualidade, ou seja, dos processos e das propriedades do solo sensíveis a mudanças causadas por fatores naturais e antrópicos. Assim, os indicadores de qualidade são atributos físicos, químicos e biológicos capazes de serem alterados em resposta às variações nas condições do solo (Brejda et al., 2000; Marzaioli et al., 2010).

Segundo Elliot et al. (1994), um bom indicador deve conter os requisitos básicos: a) sensibilidade para um maior número de agentes degradantes; b) consistência na direção da mudança; c) capacidade de refletir os diferentes níveis de



degradação; d) fácil mensuração e com preço de determinação acessível; e) fácil interpretação.

Vários estudos mostram que os indicadores biológicos são mais sensíveis que indicadores químicos e físicos para detectar, com mais antecedência, alterações que ocorrem no solo em função do seu uso e manejo (Doran, 1980; Powlson et al., 1987; Dick, 1994; Matsuoka et al., 2003, Souza, 2011; Lisboa et al., 2012). Além disso, por ser capaz de indicar a intensidade de alguns processos bioquímicos, estar estreitamente relacionada com a atividade biológica e apresentar respostas rápidas às mudanças de manejo do solo, a atividade enzimática tem sido sugerida como um dos principais indicadores da atividade biológica e da qualidade do solo (Chaer & Tótola, 2007; Mendes et al., 2009; Peixoto et al., 2010; Silva et al., 2012; Lopes et al., 2013).

### 3.3. COMO INTERPRETAR OS ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS?

Um grande número de atributos do solo tem sido proposto como indicador de sua qualidade, mas para ser um indicador efetivo e quantitativo, o atributo deve possuir um quadro interpretativo. É necessário saber se um determinado valor do indicador é considerado bom e o que se deve fazer caso não seja. Para tornar a interpretação ainda mais complexa, valores considerados adequados para um tipo de solo podem não ser apropriados para outros, graças às diferentes pedogêneses que geram as várias classes de solos (Sparling et al., 2008).

Uma das grandes limitações para o uso em rotina de indicadores microbiológicos reside na dificuldade de interpretação dos valores individuais desses

parâmetros (Arshad & Martin, 2002; Gil-Sotres et al., 2005). A maior parte dos trabalhos já realizados com os atributos microbiológicos envolve a comparação de diferentes sistemas de manejo de solo e/ou culturas, inclusive usando como referência áreas não perturbadas, sob vegetação nativa (Souza, 2011). Essa dificuldade constitui um dos grandes obstáculos a serem transpostos nas avaliações de qualidade do solo, uma vez que a inclusão dos atributos microbiológicos nessas avaliações pressupõe o estabelecimento de valores que possam separar solos com diferentes condições de sustentabilidade (Tótolá & Chaer, 2002; Gil-Sotres et al., 2005). Diferentemente do que ocorre com os indicadores químicos de fertilidade, onde existem tabelas com níveis de suficiência (baixo, médio, adequado e alto) relativamente bem definidos para cada nutriente e tipo de solo, para os atributos microbiológicos esse tipo de informação é escasso.

Com base na utilização dos princípios dos ensaios de calibração de nutrientes, recentemente, foi desenvolvida uma estratégia para interpretação de atributos microbiológicos (carbono da biomassa microbiana, respiração basal e atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, celulase, arissulfatase e fosfatase ácida) para Latossolos Vermelhos de Cerrado de textura argilosa (Lopes et al. 2013). A estratégia foi baseada nas relações desses atributos, avaliados na época de florescimento das culturas, com o rendimento relativo acumulado (RRA) de grãos de soja e milho e com os teores de carbono orgânico do solo (COS), em experimentos de longa duração. Essa estratégia, até então inédita na literatura, também resultou no lançamento da primeira aproximação das tabelas de interpretação desses indicadores nos Latossolos argilosos do Cerrado.

### 3.4. VARIAÇÕES SAZONAIS, PRÉ-TRATAMENTOS E O DESAFIO DA UNIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS.

O solo é um sistema biológico altamente complexo que é influenciado por parâmetros químicos, físicos e ambientais, e isso gera um habitat variado para as comunidades microbianas (Pietramellara et al., 2002; Campos et al., 2012)

De acordo com Dick et al. (1996), com a adoção de protocolos adequados de coleta e de pré-tratamento de amostras, os resultados das pesquisas podem fornecer estimativas precisas e confiáveis das atividades enzimáticas do solo, bem como sua caracterização da variabilidade espacial e temporal.

Em geral, amostragens para análises microbiológicas são realizadas na metade da época chuvosa, preferencialmente na fase de máximo desenvolvimento das culturas (floração), e com as amostras na umidade do campo (“field-moist”) (Carneiro et al., 2004; Franchini et al., 2007; Pereira et al., 2007; Carneiro et al., 2009; Hungria et al., 2009; Peixoto et al., 2010). Entretanto, essa época coincide com um período de elevada demanda de trabalho na lavoura (principalmente em termos de controle de pragas e doenças) e com a cultura estabelecida em máximo desenvolvimento, o que, na prática, dificultaria a coleta e o envio dessas amostras para o laboratório (Mendes et al. 2015). Por outro lado, a amostragem padrão para fertilidade química de solo é realizada no fim do período chuvoso (Sanzonowickz, 2004), após a colheita das culturas (no fim do período chuvoso, o solo ainda apresenta alguma umidade, o que facilita a amostragem). Isso ocorre porque essa amostragem leva em consideração a necessidade de ter o resultado da análise de solo com antecedência, para facilitar o planejamento da compra de insumos como

calcário, gesso ou adubos para a safra subsequente (as amostras devem ser enviadas aos laboratórios com a máxima antecedência possível em relação à época de plantio).

No Brasil, estudos que avaliem o funcionamento biológico do solo com amostras obtidas após a colheita das culturas, visando à unificação das amostragens de fertilidade e microbiologia, precisam ser ampliados.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; ACOSTA-MERCADO, D.; SOTOMAYOR-RAMÍREZ, D.; CRUZ-RODRÍGUEZ, L.; Microbial communities and enzymatic activities under different management in semiarid soils. **Applied Soil Ecology**, v.38, p.249 - 260, 2008.

ACTON, D.F.; PADBURY, G.A.; **Chapter 2: A conceptual framework for soil quality assessment and monitoring**. In: A Program to Assess and Monitor Soil Quality in Canada. Soil Quality Evaluation Summary. Report. Centre for Land and Biological Resources Research, Research Branch, Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa, ON. 201 pp, 1994.

ALEXANDER, M.: **Agriculture's responsibility in establishing soil quality criteria**. In: Environmental Improvement – Agriculture's Challenge in the Seventies. National Academy of Sciences, Washington, D.C., pp. 66-71, 1971.

ANDREWS, S.S.; KARLEN, D.L.; CAMBARDELLA, C.A.; The soil management assessment framework: a quantitative soil quality evaluation method. **Soil Science Society of America Journal**, v.68, p.1945-1962, 2004. doi:10.2136/sssaj2004.1945

ARSHAD, M.A.; MARTIN, S.; Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems, **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.88, p.153 – 160, 2002. doi:10.1016/S0167-8809(01)00252-3

ARAÚJO, E.A.; KER, J.C.; NEVES, J.C.L.; LANI, J.L.; Qualidade do solo: conceitos, indicadores e avaliação. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v.5, p.187 - 206, 2012.

BREJDA, J.J.; KARLEN, D.L.; SMITH, J.L.; ALLAN, D.L.; Identification of regional soil quality factors and indications in Northern Mississippi Loess Hills and Palouse Prairie. **Soil Science Society of America Journal**; v.64, p.2125 - 2135, 2000.

BURGUER, J.A.; KELTING, D.L.; Using soil quality indicators to assess forest stand management. **Forest Ecology and Management**, v.122, p.155 – 166, 1999.

CAMPOS, A.C.; ETCHEVERS, J.B.; OLESCHKO, K.L.; HIDALGO, C.M.; Soil Microbial biomass and nitrogen mineralization rates along an altitudinal gradient on the Cofre de Perote volcano (Mexico): the importance of landscape position and land

use. **Land Degradation & Development**, v.25, p.581 – 593, 2012 DOI: 10.1002/ldr.2185

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

CARNEIRO, M.A.C.; SOUZA, E.D.; REIS, E.F.; PEREIRA, H.S.; AZEVEDO, W.R.; Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.147 - 157, 2009.

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

CHAER, G.M.; TÓTOLA, M.R.; Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.381-1396, 2007.

COSTA, E.A.; GOEDERT, W.J.; SOUSA, D.M.G.; Qualidade de solo submetido a sistemas de cultivo com preparo convencional e plantio direto. **Pesquisa**

**Agropecuária Brasileira**, v.41, p.1185-1191, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2006000700016>

CRESTANA, S.; SOUSA, I.S.F.; Agricultura tropical no Brasil. In: ALBUQUERQUE, A.C.S.; SILVA, A.G.; (eds. técnicos) **Agricultura tropical. Quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas**, Vol. 1. Brasília – DF: Embrapa Informação Tecnológica. p.41 – 99, 2008.

DICK, R.P.; A review: Long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. **Agriculture, Ecosystems & Environment**. v.40, p.25 – 36, 1992. doi:10.1016/0167-8809(92)90081-L

DICK, R.P. Soil enzymes activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., ed. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, (Special Publication number, 35), p.107 – 124, 1994.

DICK, R.P.; THOMAS, D.R.; HALVERSON, J.J.; Standardized methods, sampling, and sample pretreatment. In: DORAN, J.W.; & JONES, A.J.; (ed.) **Methods of assessing soil quality**. Soil Science Society of America, Spec. Publ. 49, p. 107 – 122, 1996.

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

DORAN, J.W.; JONES, A.J.; **Methods for assessing soil quality**. SSSA Special publication number 49. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, p 410, 1996.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., ed. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Soil Science Society of America, p.107-124, 1994.

DORAN, J.W.; SARRANTONIO, M.; JANKE, R.; Strategies to promote soil quality and health. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R.; GRACE, P.R. (eds.). **Soil Biota Management in sustainable farming systems**. Commonwealth Scientific Industrial Research Organization, p.230 - 237, 1994.

ELLIOT, E.T.; BURKE, I.C.; MONZ, C.A.; FREY, S.D.; PAUSTIAN, K.H.; COLLINS, H.P.; PAUL, E.A.; COLE, C.V.; BLEVINS, R.L.; FRYE, W.W.; LYON, D.J.; HALVORSON, A.D.; HUGGINS, D.R.; TURCO, R.F. & HICKMAN, M.V. **Terrestrial carbon pools in grasslands and agricultural soils: Preliminary data from the Corn Belt and Great Plains regions**. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F. & STEWART, B.A., eds. Defining soil quality for a sustainable environment. Madison: Soil Science Society of America, p. 179-191. (Special Publication number, 35), 1994.



ERKOSSA, T.; ITANNA, F.; STAHR, K.; Indexing soil quality: a new paradigm in soil science research. **Australian Journal of Soil Research**, v.45, p.129 - 137, 2007. <http://dx.doi.org/10.1071/SR06064>

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

GIL-SOTRES, F.C.; TRASAR-CEPEDA, M.C. LEIROS, S. SEOANE. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology and Biochemistry**. 37:877-887. 2005. Doi10.1016/j.soilbio.2004.10.003.

HARRIS, R.F.; KARLEN, D.L.; MULLA, D.J.; A conceptual framework for assessment and management of soil quality and health, in: Methods for assessing soil quality, **Soil Science Society of America Journal.**, Madison, Wisconsin, USA, 61–82, 1996.

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

KARLEN, D.L.; MAUSBACH, M.J.; DORAN, J.W.; CLINE, R.G.; HARRIS, R.F.; SHUMAN, G.E.; Soil quality: A concept, definition and framework for evaluation (A

guest editorial). **Soil Science Society of America**, p.4-10, 1997.  
doi:10.2136/sssaj1997.03615995006100010001x

KARLEN, D.L.; STOTT, D.; **A framework for evaluating physical and chemical indicators**. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (Eds.). *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society American, p.53-72. (Special Publication, 35), 1994.

KARLEN, D.L.; DITZLER, C.A.; ANDREWS, S.S.; Soil quality: why and how? **Geoderma**, v.114, p.145 – 156, 2003. doi:10.1016/S0016-7061(03)00039-9

LARSON, W.E.; PIERCE, F.J.; Conservation and enhancement of soil quality. In: DUMANSKI, J.; PUSHPARAJAH, E.; LATHAM, M.; MYERS, R.; (eds.) **Evaluation for Sustainable Land Management in the Developing World**. Vol. 2: Technical Papers. Proc. Int. Workshop., Chiang Rai, Thailand. Int. Board for Soil Res. and Management, Bangkok, Thailand. p.15 – 21, 1991.

LISBOA, B.B.; VARGAS, L.K.; SILVEIRA, A.O.; MARTINS, A.F.; SELBACH, P.A.; Indicadores microbianos de qualidade do solo em diferentes manejos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 45 - 55, 2012.

LIU, Z.; ZHOU, W.; SHEN, J.; LI, S.; HE, P.; LIANG, G.; Soil quality assessment of Albic soils with different productivities for eastern China. **Soil and Tillage Research**, v.140, p. 74 – 81, 2014. doi:10.1016/j.still.2014.02.010

LOPES, A.A.C.; SOUSA, D.M.G.; CHAER, G.M.; REIS JUNIOR, F.B.; GOEDERT, W.J.; MENDES, I.C. Interpretation of Microbial Soil Indicators as a Function of Crop Yield and Organic Carbon. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p.461 - 472, 2013.

LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; I – Fertilidade do solo e produtividade agrícola. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; (eds.) **Fertilidade do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, p.1 – 64, 2007.

MARZAIOLI, R.; D'ASCOLI, R.; De PASCALE, R.A.; RUTIGLIANO, F.A.; Soil quality in a Mediterranean area of Southern Italy as related to different land use type. **Applied Soil Ecology**, 44:205 - 212, 2010.

MATSUOKA, M.; MENDES, I.C.; LOUREIRO, M.F.; Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste- MT. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.425 - 433, 2003.

MELO FILHO, J.F; SOUZA, A.L.V.; SOUZA, L.S.; Determinação do índice de qualidade subsuperficial em um Latossolo Amarelo Coeso dos Tabuleiros Costeiros, sob floresta natural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, n.6, p.1599-1608, 2007.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; REIS JUNIOR, F.B.; FERNANDES, M.F.; CHAER, G.M.; MERCANTE, F.M.; ZILLI, E.J.; Bioindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade? (**Documentos 246** / Embrapa Cerrados), Planaltina – DF, 31, 2009.

MENDES, I.C.; SOUSA, D.M.G.; REIS JUNIOR, F.B.; Bioindicadores de qualidade de solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v.32, p.191, 2015.

NAKAJIMA, T.; LAL, R.; JIANG, S.; Soil quality index of a crosby silt loam in central Ohio. **Soil and Tillage Research**, v.146, p.323 – 328, 2015.  
doi:10.1016/j.still.2014.10.001

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Soil and water quality**: and agenda for agriculture. Washington, DC: National Academy Press, 542 p. 1993.

NOVAIS, R.F.; MELLO, J.W.V.; IV – Relação solo – planta. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; (eds.) **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG; Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 133 - 204, 2007.

PARR, J.F.; PAPENDICK, R.I.; HORNICK, S.; MEYER, R.E.; Soil quality: Attributes and relationship to alternative and sustainable agriculture, **American Journal Of Alternative Agriculture.**, 7, 5–11, 1992.

PEREIRA, A.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; KASCHUK, G.; CHUEIRE, L.M.O.; CAMPO, R.J.; TORRES, E.; Variações qualitativas e quantitativas na microbiota do solo e na fixação biológica do nitrogênio sob diferentes manejos com soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1397 - 1412, 2007.

PEIXOTO, R.S.; CHAER, G.M.; FRANCO, N.; REIS JUNIOR, F.B.; MENDES, I.C.; ROSADO, A.S.; A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.98, p.403 – 413, 2010. doi:10.1007/s10482-010-9454-0

PIETRAMELLARA, G.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M.T.; RENELLA, G.C.; Soil as a biological system. **Annals of Microbiology**, v.52, p,119 – 131, 2002.

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

RESENDE, M.; CURI, N.; REZENDE, S.B.; CORRÊA, G.F.; **Pedologia: Base para distinção de ambientes**. 5ª ed. Lavras – UFLA, 322p., 2007.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G.; BEZERRA, H. S. Mapeamento da Cobertura vegetal natural e antrópica do bioma Cerrado por meio de imagens Landsat ETM. In: **XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Natal, Brasil, p. 1199 - 1206, 2009.

SANZONOWICKZ, C.; Amostragem de solo, corretivos e fertilizantes. In: SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E.; (eds.) **Cerrado: Correção do solo e adubação**. 2ª ed. Planaltina, Embrapa Cerrados, pp.63 - 80, 2004.

SILVA, C.F.; PEREIRA, M.G.; MIGUEL, D.L.; FEITORA, J.C.F.; LOSS, A.; MENEZES, C.E.G.; SILVA, E.M.R.; Carbono orgânico total, biomassa microbiana e atividade enzimática do solo de áreas agrícolas, florestais e pastagem no médio vale do Paraíba do Sul (RJ). **Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa**, v. 36, p. 1680-1689, 2012.

SOJKA, R.E.; UPCHURCH, R.R.; Reservation regarding the soil quality concept. **Soil Science Society of America Journal**, 63, 1039–1054, 1999.

SOUZA, L.M.; **Atributos químicos, físicos e biológicos, estrutura de comunidades bacterianas e qualidade de solos de Cerrado sob plantio direto e preparo convencional**. Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília – UnB, Dissertação de Mestrado, 183 p. 2011.

SPARLING, G.P.; LILBURNE, L.; VOJVODIĆ-VUKOVIĆ, M.; **Provisional targets for soil quality indicators in New Zealand**. Palmerston North, N.Z.: Manaaki Whenua Press, (Landcare Research Science series, ISSN 1172-269X ; no. 34), 64p. 2008.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M.; Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M.; (eds) **Tópicos em Ciência do Solo**, Vol. 2. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.195-276, 2002.

VEZZANI, F.M.; MIELNICZUK, J.; Uma Visão Sobre Qualidade do Solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33:743-755, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832011000100020>

ZILLI, J.E.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COUTINHO, H.L.C.; NEVES, M.C.P.; Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.20, p.391 - 411, 2003.

ZORNOZA, R.; ACOSTA, J.A.; BASTIDA, F.; DOMÍNGUEZ, S.G.; TOLEDO, D.M.; FAZ, A.; Identification of sensitive indicators to assess the interrelationship between soil quality, management practices and human health. **Soil**, v.1, p.173 – 185, 2015. doi:10.5194/soil-1-173-2015

**CAPÍTULO 1:**  
**EFEITOS DA ÉPOCA DE AMOSTRAGEM E DA SECAGEM DO SOLO AO AR NA**  
**ATIVIDADE DAS ENZIMAS ARILSULFATASE,  $\beta$ -GLICOSIDASE E FOSFATASE**  
**ÁCIDA**



## RESUMO

Para que os agricultores possam usar os bioindicadores nas análises de rotina de solo, seria muito importante que as amostragens para microbiologia e fertilidade pudessem ser unificadas, gerando as amostras de solo FERTBIO (para fertilidade e biologia do solo). Neste trabalho, foram avaliadas as atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida em amostras de solo úmidas, coletadas durante a floração, e em amostras de solo úmidas e secas ao ar, coletadas após a colheita do milho, em 2013 e 2015. A variabilidade anual dessas enzimas, nos anos de 2013 e 2015, também foi avaliada nas duas condições de amostragem de solo: floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco. Foram coletadas amostras, em três experimentos, contendo 24 tratamentos com conteúdos variáveis de fósforo extraível e diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e milho. A amostragem realizada na fase de pós-colheita com secagem do solo ao ar promoveu reduções significativas na atividade das enzimas arilsulfatase (38%),  $\beta$ -glicosidase (47%) e fosfatase ácida (59%). A mudança na época de amostragem associada ao processo de secagem ao ar não alterou as relações das enzimas com o COS nem com o RRA, evidenciando que a amostragem pós-colheita/solo seco foi representativa das condições verificadas na floração/solo úmido. Foi observada uma baixa variabilidade anual das enzimas arilsulfatase e  $\beta$ -glicosidase nas duas épocas de amostragem. Essa é mais uma vantagem que facilita a adoção desses bioindicadores em análises comerciais de solo, como parâmetros indicadores do seu biofuncionamento.

**Palavras-chave:** Atividade enzimática, interpretação de bioindicadores, FERTBIO.

## ABSTRACT

So that farmers can use the bioindicators as part of the routine in soil analysis, it is important that the sampling procedures for microbiology and fertility be unified, generating the FERTBIO samples (for soil fertility and biology). During a two-years study (2013 and 2015), we evaluated the activity of soil enzymes  $\beta$ -glucosidase, arylsulfatase and acid phosphatase in field-moist soil samples, collected at the flowering stage, and in field-moist and air-dried soil samples, collected after the corn harvest. The annual variability of these enzymes in 2013 and 2015 was evaluated in the field-moist/flowering stage samples and in the air-dried/post-harvest samples. Soil samples (0 to 10 cm depth) were collected in 24 treatments from three long-term experiments and analyzed to determine their enzyme activities and soil organic carbon (SOC). These treatments presented a large range of extractable Mehlich-P values and relative cumulative corn and soybean yields (RCY). Air-drying at the post-harvest stage promoted significant reductions in the activities of arylsulfatase (38%),  $\beta$ -glucosidase (47%) and acid phosphatase (59%). The relationships between the activities of these enzymes with SOC and RCY did not change for the field-moist/flowering samples and for the air-dried-post-harvest samples. This result shows that the air-dried/post-harvest samples were representative of the field-moist/flowering stage samples. A low annual variability of arylsulfatase and  $\beta$ -glucosidase enzymes, in the two sampling periods was observed. This is another advantage that facilitates the adoption of these bioindicators in commercial soil analyzes to evaluate the biological functioning of the soil.

**Key Words:** Soil Enzymes, interpretation of biological indicators, FERTBIO

## 1. INTRODUÇÃO

O conceito de amostra de solo FERTBIO (para fertilidade química e biológica do solo) foi lançado por Mendes et al. (2015) levando-se em consideração as facilidades que a unificação das amostragens, para microbiologia e fertilidade química, trarão no sentido de facilitar a inclusão dos bioindicadores nas análises de rotina de solo. Conforme destacado por esses autores, para que isso ocorra, aspectos importantes relacionados à época de coleta do solo, profundidade, forma de amostragem e processamento das amostras após a coleta, precisam ser estudados – não só para que o agricultor possa unificar as amostragens para microbiologia e fertilidade química, mas, também, para que os laboratórios comerciais de análises de solo possam unificar os processos de preparação das amostras (secagem à temperatura ambiente e peneiramento).

Enquanto a amostragem padrão para fertilidade química de solo é realizada no fim do período chuvoso (Sanzonowickz, 2004), após a colheita das culturas, as amostragens para análises microbiológicas são feitas, tradicionalmente, na metade da época chuvosa, durante a floração das plantas (Peixoto et al., 2010). Porém, essa época coincide com um período de elevada demanda de trabalhos na lavoura e com a cultura estabelecida em máximo desenvolvimento, o que, na prática, dificultaria a coleta e o envio dessas amostras para o laboratório (Mendes et al. 2015).

O pré-tratamento das amostras de solo para as análises de fertilidade inclui o peneiramento, em malha de 2 mm, e a secagem do solo ao ar (terra fina seca ao ar, TFSA). Vários trabalhos na literatura têm abordado as implicações do pré-tratamento

e do armazenamento de amostras de solo para análises microbiológicas (Lorenz & Dick, 2011; Zornoza et al., 2006). No caso específico das enzimas do solo, alguns estudos mencionam reduções na atividade enzimática com a secagem (Abellan et al., 2011; Bandick & Dick, 1999; Lee et al., 2007; Lopes et al., 2015; Pancholy & Rice, 1972; Wallenius et al., 2010); outros mencionam aumentos (Bandick & Dick, 1999; Eivazi & Tabatabai, 1977; Eivazi & Tabatabai, 1990; Gianfreda & Bollag, 1996; Longo & Melo, 2005); e outros reportam a ausência de alterações (Zornoza et al., 2006) ou que os resultados são imprevisíveis (Rao et al., 2003). Como os resultados variam de acordo com o parâmetro avaliado e o tipo de solo, a realização de pesquisas locais é fundamental para estabelecer as implicações da secagem ao ar para as determinações microbiológicas.

Recentemente, observou-se, em amostras de Latossolos argilosos de Cerrado, que, apesar de o armazenamento das amostras em condições de solo seco por 2 anos (uma condição extrema) ter reduzido, respectivamente, em 23% e 52% a atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase, esse processo não interferiu significativamente no ranqueamento dos tratamentos (Lopes et al., 2015), o que pode viabilizar a utilização desses parâmetros em análises de rotina. Por outro lado, no caso da enzima fosfatase ácida, o armazenamento das amostras, em condições de solo seco por 2 anos, promoveu uma expressiva redução de 72% na sua atividade, que influenciou o ranqueamento dos tratamentos.

No Brasil, estudos que avaliem o funcionamento biológico do solo com amostras obtidas após a colheita das culturas, visando à unificação das amostragens de fertilidade e microbiologia, precisam ser realizados. Assim, os objetivos desse trabalho foram: i) avaliar a possibilidade de unificação da época de

coleta de solo e dos processos de pré-tratamento das amostras de microbiologia e fertilidade de solo (com secagem à temperatura ambiente e peneiramento em 2 mm), e ii) gerar novas tabelas de interpretação para as atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida, utilizando o conceito de amostra FERTBIO (pós-colheita/solo seco ao ar). Outro objetivo foi avaliar a variabilidade anual das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida nos anos de 2013 e 2015 em duas condições de amostragem de solo: floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco.

Para a realização do estudo, novamente, aproveitou-se a valiosa oportunidade oferecida pelo gradiente de matéria orgânica do solo, presente em três experimentos de longa duração de manejo de adubação fosfatada, localizados na Embrapa Cerrados.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado em três experimentos de longa duração, localizados na Embrapa Cerrados, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado. Os delineamentos experimentais são em blocos ao acaso com três repetições. A descrição detalhada sobre o histórico desses três experimentos de longa duração foi feita por Lopes et al. (2013). Nas safras 2012/2013 e 2014/2015, os três experimentos estavam sob o cultivo de milho. Foram utilizados os mesmos 24 tratamentos, descritos no estudo de Lopes et al. (2013) (Tabela 1). Nesses 24 tratamentos, diferentes doses e formas de aplicação de superfosfato triplo possibilitaram a criação de um gradiente de fósforo extraível, o qual gerou um

gradiente de diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e de milho (RAG). Devido aos diferentes aportes de biomassa da parte aérea e raízes das culturas, também foi estabelecido um gradiente de matéria orgânica do solo (Lopes et al., 2013).

A amostragem do solo foi realizada, na camada de 0 a 10 cm, utilizando-se um trado holandês de 5 cm de diâmetro (Figura 1). Nas parcelas dos 24 tratamentos que estavam sob cultivo de milho, foram coletadas 20 sub-amostras, sendo três no centro das linhas de plantio e 17 nas entrelinhas. As sub-amostras foram homogeneizadas para a obtenção de uma amostra composta por parcela.

Para avaliar a possibilidade de unificação das amostragens para as análises de fertilidade de solo e microbiologia, foram realizadas quatro coletas de solo: duas na fase de florescimento das culturas (época padrão para microbiologia, Figura 2A), em janeiro de 2013 e janeiro de 2015, e duas após a colheita do milho (época padrão para fertilidade, Figura 2B), em maio de 2013 e maio de 2015.



**Figura 1** – Coleta de solo efetuada com auxílio de trado-holandês (esquerda) e parcela do experimento após coleta das amostras (direita).

**Tabela 1** - Descrição dos 24 tratamentos selecionados dos experimentos I, II e III e valores acumulados dos diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e milho (RAG).

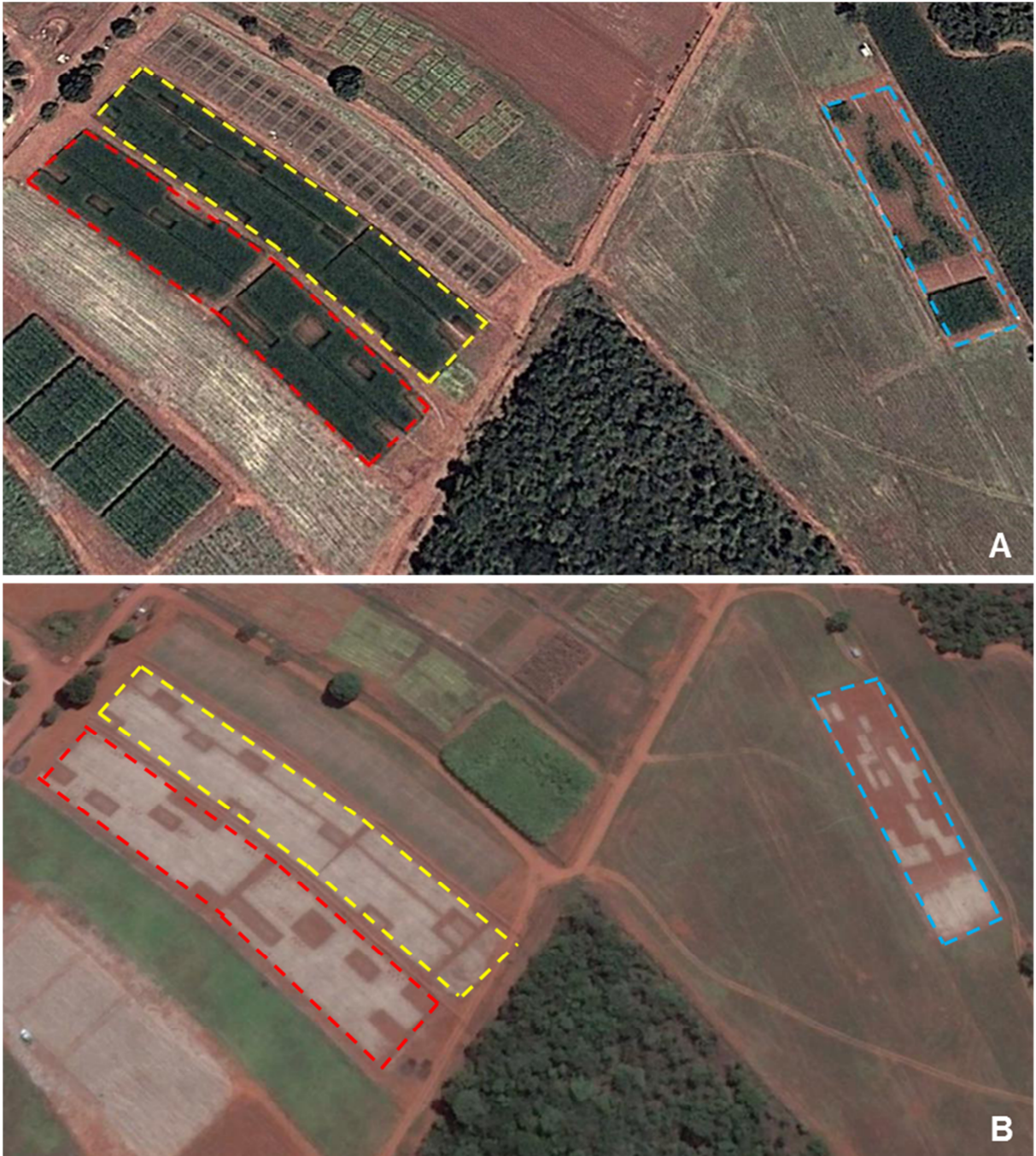
Trat <sup>1</sup>	Dose (kg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> )		Modo de Aplicação	Sistema de Cultivo <sup>3</sup>	RAG
	1º ano <sup>2</sup>	2º ano em diante			
<b>Experimento I</b>					
1	0	0	Lanço/Sulco	SPC/MIL	3490
2	80	0	Lanço/Sulco	SPC/MIL	7888
3	160	0	Lanço/Sulco	SPC/MIL	13916
4	240	0	Lanço/Sulco	SPC/MIL	18729
5	480	0	Lanço/Sulco	SPC/MIL	31434
6 <sup>(*)</sup>	80	80	Sulco	SPC/MIL	119928
7 <sup>(*)</sup>	240+80	80	Lanço/Sulco	SPC/MIL	125776
8 <sup>(*)</sup>	80	80	Sulco	SPD/MIL	130902
<b>Experimento II</b>					
9	0	0	Sulco	SPD/MUC	61929
10	50	50	Sulco	SPD/MUC	117344
11	100	100	Sulco	SPD/MUC	126000
12	0	0	Sulco	SPD/MIL	61743
13	50	50	Sulco	SPD/MIL	119670
14	100	100	Sulco	SPD/MIL	124631
15	0	0	Sulco	SPC/MIL	50623
16	50	50	Sulco	SPC/MIL	114620
17	100	100	Sulco	SPC/MIL	128623
<b>Experimento III</b>					
18	0	0	Sulco	SPD/MIL	5996
19	0	80	Sulco	SPD/MIL	108717
20	240	0	Lanço/Sulco	SPD/MIL	30684
21	240	80	Lanço/Sulco	SPD/MIL	112729
22	0	40	Sulco	SPD/MIL	85384
23	0	60	Sulco	SPD/MIL	97659
24 <sup>(**)</sup>	0	80	Sulco	SPD/MIL	64729

<sup>1</sup> Trat = Tratamento; <sup>2</sup> Dose de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> no primeiro ano aplicada a lanço; <sup>3</sup> Sistema de Cultivo (SPC/MIL = sistema de preparo convencional com milho como planta de cobertura; SPD/MIL = sistema de plantio direto com milho como planta de cobertura; SPD/MUC = sistema de plantio direto com mucuna como planta de cobertura); <sup>(\*)</sup> Tratamentos que não recebem mais adubação desde a safra 2011/2012. <sup>(\*\*)</sup> Tratamento em que a adubação anual de 80 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> foi iniciada na safra 2011/2012.

No laboratório, o solo coletado em janeiro, na fase de florescimento das culturas, foi separado em duas porções, uma para análises químicas e outra para avaliação de parâmetros microbiológicos. A porção de solo destinada para as análises microbiológicas foi peneirada em malha de 4 mm e acondicionada em geladeira (temperatura entre 3° e 7° C) até o momento das análises, iniciadas, no máximo, em uma semana após a amostragem. A porção de solo destinada às análises de fertilidade de solo foi seca ao ar e peneirada em malha de 2 mm (terra fina seca ao ar, TFSA).

O solo coletado nas amostragens do fim do período chuvoso também foi separado em duas porções: uma foi submetida ao preparo padrão realizado para amostras de solo destinadas às análises de fertilidade, ou seja, foi seca ao ar por 15 dias e peneirada em malha de 2 mm (pós-colheita/solo seco, denominado FERTBIO). A outra porção foi peneirada a 4 mm, mantida na umidade do campo (field-moist) e armazenada em geladeira a temperatura entre 3° e 7° C (pós-colheita/solo úmido). Nesses três conjuntos de amostras (floração/solo úmido, pós-colheita/solo seco e pós-colheita/solo úmido) foram realizadas determinações de atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida.





**Figura 2** - Imagem dos três experimentos, obtida com auxílio do software Google Earth, na época de floração (A) e após a colheita do milho (B). A área tracejada em azul corresponde ao experimento I, em amarelo, ao experimento II e, em vermelho, ao experimento III.

## 2.1. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E QUÍMICAS

As atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase foram determinadas de acordo com Tabatabai (1994), omitindo-se o tolueno. O método é baseado na determinação colorimétrica do p-nitrofenol, liberado por essas enzimas, quando o solo é incubado com uma solução tamponada de substratos específicos para cada uma. Para cada amostra, utilizaram-se duas repetições analíticas mais um controle. Utilizou-se uma curva padrão preparada com as concentrações conhecidas de p-nitrofenol (0, 10, 20, 30, 40 e 50  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{ml}^{-1}$ ) para determinação da quantidade desse produto liberada das amostras. Os valores de atividade foram expressos em  $\mu\text{g}$  p-nitrofenol  $\text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$  solo.

A matéria orgânica do solo (MOS) foi determinada pela oxidação via úmida com dicromato de potássio em meio sulfúrico, seguida da titulação com sulfato ferroso amoniacal (Walkley & Black, 1934) e calculada de acordo com Jackson (1970). Nesse cálculo, não foi utilizado o fator de correção para carbono total (fator de 1,3), conforme proposto por Walkley (1947), por isso essa determinação foi denominada matéria orgânica facilmente oxidável (Jackson, 1970). O carbono orgânico do solo (COS) foi calculado dividindo-se o teor de matéria orgânica por 1,724.

## 2.2. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para avaliar a distribuição dos dados obtidos em cada uma das três amostragens (floração/solo úmido, pós-colheita/solo seco e pós-colheita/solo úmido),

foram construídos gráficos do tipo “boxplot” contendo as médias, medianas, valores de máxima e mínima, e os primeiros e terceiros quartis.

Análises de regressão foram utilizadas para comparar as amostragens: florescimento/solo úmido x pós-colheita/solo seco ao ar (amostra FERTBIO) e pós-colheita/solo úmido x pós-colheita/solo seco ao ar (FERTBIO). Nessas análises, o solo seco ao ar sempre foi a variável dependente. Com os dados obtidos em 2013 e 2015, modelos de regressão foram ajustados utilizando o pacote estatístico SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA). O teste estatístico não paramétrico de “Wilcoxon signed-rank test” foi utilizado para realizar as seguintes comparações: floração/solo úmido x pós-colheita/solo seco e pós-colheita/solo úmido x pós-colheita/solo seco.

Para o conjunto de amostras pós-colheita/solo seco (FERTBIO) x pós-colheita/solo úmido, as médias dos dados de atividade enzimática obtidos em 2013 e 2015, em cada um dos três experimentos de campo, foram submetidas a uma análise de variância para blocos ao acaso usando o PROC GLM do SAS. Em cada experimento, os efeitos dos tratamentos foram separados usando o Teste de Duncan ( $P = 0,05$ ). Todos os requisitos para a análise de variância foram verificados.

O efeito da variação interanual (2013 e 2015), nas amostragens realizadas nas fases de floração e de pós-colheita/solo seco (FERTBIO), foi determinado por meio de uma análise de componentes de variância. As fontes de variação foram: tratamentos, anos e a interação ano x tratamento. O objetivo dessa análise foi determinar, em cada amostragem (floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco), as fontes de variação que mais influenciaram a variância dos atributos avaliados (atividade das enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida).

### 2.3. NOVAS TABELAS DE INTERPRETAÇÃO USANDO O CONCEITO FERTBIO

As novas tabelas de interpretação dos valores individuais dos parâmetros microbiológicos com o conceito FERTBIO foram geradas utilizando a estratégia descrita por Lopes et al. (2013). As relações entre o COS e o rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho (RRA), e entre os atributos microbiológicos ( $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida) com o RRA e destes com o COS foram determinadas por meio de análises de regressão. As equações e os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), bem como a significância dos modelos e dos parâmetros dos modelos, foram obtidos com auxílio do procedimento PROC REG do programa SAS versão 9.1. Foram ajustados modelos lineares ou quadráticos entre RRA e COS com os atributos microbiológicos, sendo o melhor modelo selecionado com base na significância dos parâmetros do modelo e maior coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

O RRA é o rendimento acumulado de grãos de soja e milho relativizado em função da maior produção acumulada obtida em cada experimento. Conforme detalhado em Lopes et al. (2013), a opção de uso do RRA foi devido ao fato de que os três experimentos possuem diferentes rotações (sucessões) de culturas e tempos de estabelecimento (22 anos – Experimento I; 17 anos – Experimentos II e III), permitindo reunir em uma única base de dados os resultados obtidos nessas diferentes condições (Danke & Olson, 1990).

Para a interpretação dos valores dos atributos microbiológicos, foram utilizadas duas estratégias. A primeira baseou-se nas relações entre os dados de atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida com os dados de RRA. A partir dos modelos de melhores ajustes para cada variável, assumiu-se como nível

crítico (NC) o valor do bioindicador capaz de propiciar 80% do rendimento relativo acumulado máximo, considerando este valor como a produção de máxima eficiência econômica. Para facilitar a interpretação dos resultados, foram definidas três classes (baixa, média, adequada) de acordo com os respectivos valores de RRA: < 40% (baixa), 41 - 80% (média) e > 80% (adequada).

A segunda estratégia para a interpretação dos atributos ( $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida) baseou-se nos valores de COS. Com base na relação entre o RRA e o COS, inicialmente foi gerado um NC para o COS (equivalente a 80% do RRA) e a seguir definidas classes de interpretação para o COS em função do RRA ( $\leq$  40% (baixa), 41 - 80% (média), > 80% (adequada). A partir das classes obtidas para os teores de COS, foram obtidos valores correspondentes para os bioindicadores, com base nas relações entre estes e o COS.

### **3. RESULTADOS**

Os resultados das análises estatísticas descritivas (médias de 2013 e 2015) obtidos nas três épocas de avaliação: floração/solo úmido, pós-colheita/solo úmido e pós-colheita/solo seco (FERTBIO) são apresentados na Figura 3 e serão discutidos nas seções 3.1 e 3.2.

#### **3.1. FLORAÇÃO/SOLO ÚMIDO X PÓS-COLHEITA/SOLO SECO (FERTBIO)**

Nos dois anos de estudo, a comparação dos dados coletados na amostragem floração/solo úmido (Tabela 2) com os dados coletados na amostragem pós-

colheita/solo seco (Tabela 3) mostra que houve uma redução significativa (Wilcoxon signed rank test,  $p < 0,001$ ) nos níveis de atividade enzimática no segundo grupo. Em média, nos dois anos avaliados, essas reduções foram de 38%, 47%, e 59%, para as enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase, e fosfatase ácida, respectivamente (Figura 3).

A maior redução na atividade enzimática observada na amostragem pós-colheita/solo seco foi verificada na fosfatase ácida. Nas amostras coletadas na floração/solo úmido os valores de atividade dessa enzima variaram entre 316 a 1692  $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Para as amostras FERTBIO (pós-colheita/solo seco), os valores de atividade variaram entre 200 e 750  $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

Regressões lineares (Figura 4) entre os dois conjuntos de amostras (floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco) foram ajustadas para todas as enzimas avaliadas e para o carbono orgânico do solo (COS). Além de significativos ( $P < 0,001$ ), os valores dos coeficientes de determinação  $R^2$  (0,78; 0,69, 0,56, e 0,80 para as enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e para o COS, respectivamente) evidenciam o bom ajuste dos modelos e que a amostragem FERTBIO foi representativa das condições verificadas na floração/solo úmido. Os coeficientes de inclinação das análises de regressão entre as amostras floração/solo úmido e as amostras pós-colheita/solo seco (Figura 4) para as enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase, e fosfatase ácida foram de 0,44, 0,35 e 0,26, respectivamente. Como esses coeficientes indicam o desvio de uma relação 1:1 (quanto mais afastados de 1, maiores as diferenças entre os valores das duas amostragens), verifica-se que os efeitos da mudança da amostragem aumentaram na seguinte ordem: arilsulfatase <

$\beta$ -glicosidase < fosfatase ácida. Entre as três enzimas avaliadas, a arilsulfatase foi a menos afetada, com um coeficiente de inclinação de 0,44.

**Tabela 2** - Atividade enzimática e carbono orgânico do solo, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015, na fase de floração/solo úmido.

Tratamentos	$\beta$ -Glicosidase		Arilsulfatase		Fosfatase Acida		COS	
	2013	2015	2013	2015	2013	2015	2013	2015
1	52	54	12	10	535	316	13,26	13,33
2	64	60	19	11	501	339	13,27	13,16
3	58	76	24	13	464	359	14,39	14,37
4	68	92	27	21	603	616	14,22	13,83
5	67	68	20	15	546	411	14,58	14,24
6	212	172	118	94	996	846	19,68	18,10
7	207	208	96	74	970	822	19,44	17,37
8	279	378	194	180	1102	1692	19,92	21,38
9	141	181	60	57	845	846	16,95	17,12
10	186	218	116	122	1129	824	19,99	19,70
11	196	253	128	131	977	1027	19,19	20,18
12	181	256	93	94	1190	1553	17,83	18,59
13	238	327	296	258	1519	1396	20,72	20,35
14	273	371	254	252	1300	1301	20,57	21,11
15	122	158	69	74	720	878	15,92	15,12
16	203	229	141	147	1088	1078	18,14	16,32
17	180	168	139	66	924	533	17,00	17,21
18	64	77	14	8	500	580	13,58	12,77
19	249	314	153	158	1063	1554	19,65	19,34
20	94	133	30	34	731	1123	15,29	14,44
21	235	293	181	131	1275	1062	20,43	21,11
22	191	250	122	90	1113	1286	18,03	19,19
23	254	299	153	130	1272	1355	20,75	20,46
24	170	260	73	97	1060	1042	16,48	17,72
Médias	166	204	105	95	934	951	17,47	17,35

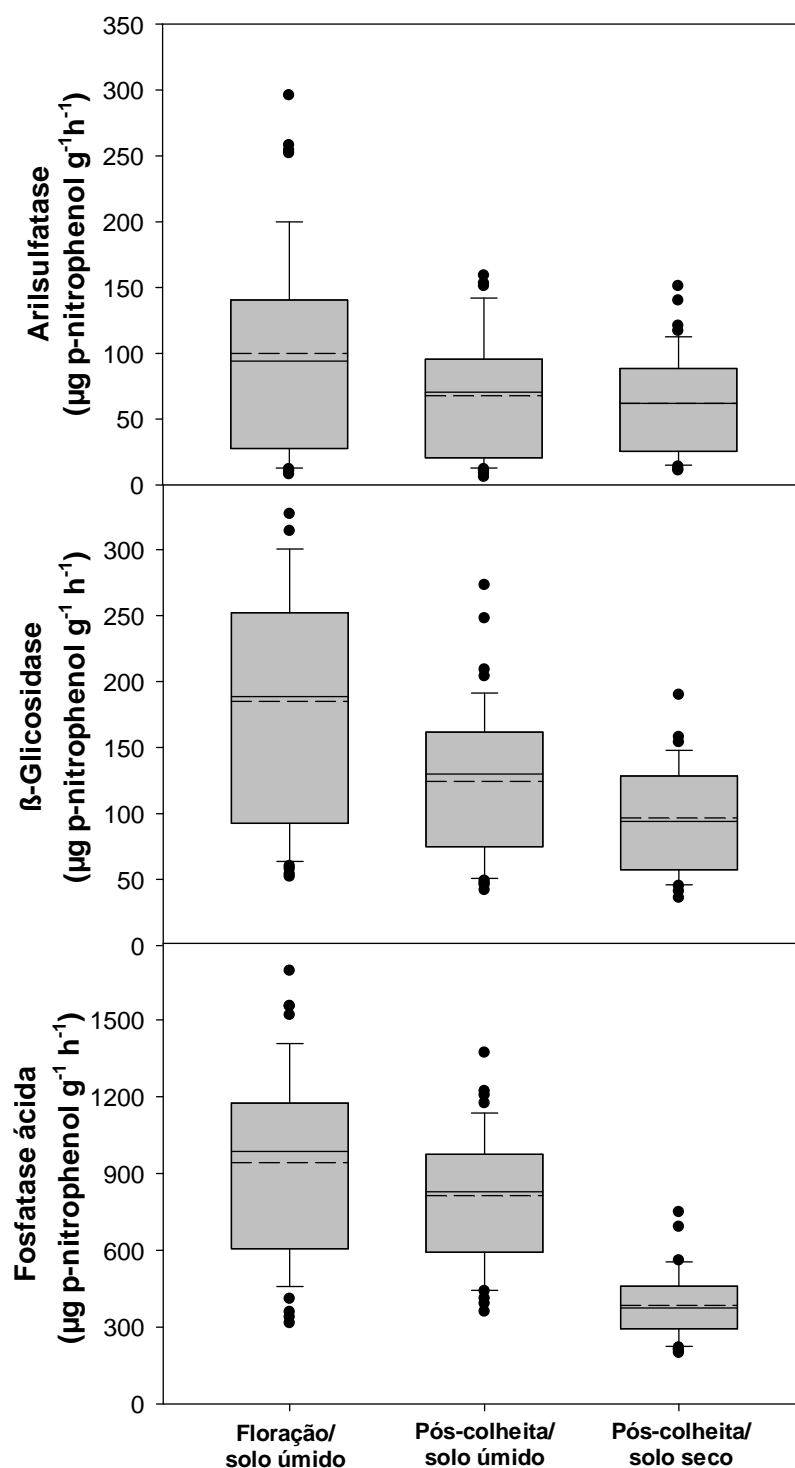
Valores de atividade de  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ . Carbono orgânico do solo (COS) expresso em  $\text{g kg}^{-1}$ .

**Tabela 3** - Atividade enzimática e carbono orgânico do solo, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015 na fase pós-colheita/solo seco.

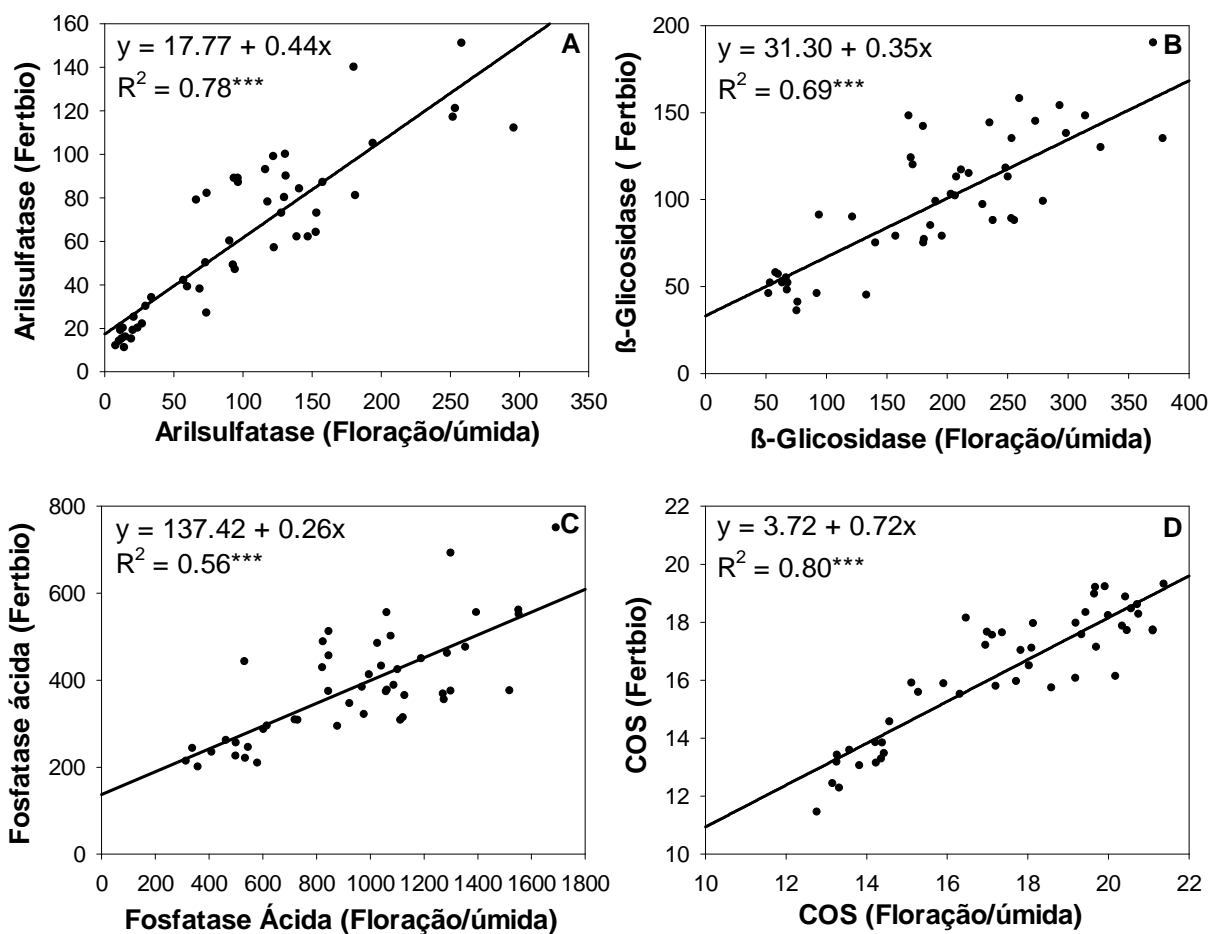
Tratamentos	β-Glicosidase		Arilsulfatase		Fosfatase Ácida		COS	
	2013	2015	2013	2015	2013	2015	2013	2015
1	46	52	15	14	220	214	13,17	12,27
2	52	57	15	19	256	243	13,41	12,43
3	58	36	20	20	261	200	13,83	13,28
4	52	46	22	25	286	295	13,85	13,05
5	55	48	19	16	246	234	14,56	13,14
6	117	120	78	89	412	512	19,20	17,10
7	102	113	89	82	384	429	18,33	17,63
8	99	135	105	140	424	750	19,22	19,31
9	75	75	39	42	374	455	17,20	17,54
10	85	115	93	99	365	488	18,23	17,14
11	79	89	73	100	321	485	17,97	16,13
12	77	88	49	47	449	561	17,02	15,73
13	88	130	112	151	376	555	18,60	17,86
14	145	190	121	117	375	692	18,46	17,73
15	90	79	38	27	309	294	15,87	15,90
16	103	97	84	62	388	501	17,96	15,51
17	142	148	62	79	346	443	17,66	15,78
18	53	41	11	12	226	210	13,58	11,45
19	118	148	73	87	377	551	18,97	17,56
20	91	45	30	34	308	314	15,58	13,47
21	144	154	81	90	355	555	18,87	17,70
22	99	113	57	60	308	462	16,50	16,06
23	135	138	64	80	368	476	18,27	17,71
24	124	158	50	87	374	432	18,13	15,96
Médias	93	101	58	66	338	431	16,85	15,72

Valores de atividade de β-glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em μg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>. Carbono orgânico do solo (COS) expresso em g kg<sup>-1</sup>.





**Figura 3** - Atividade enzimática em amostras coletadas na floração/solo úmido, pós-colheita/solo úmido e pós-colheita/solo seco. Linhas sólidas, pontilhadas e as barras representam as medianas, médias, e os 10° e 90° percentis, respectivamente. Caixas representam os 25° e 75° percentis. Os pontos representam as médias dos tratamentos que ficaram abaixo do 10° percentil e acima do 90° percentil.



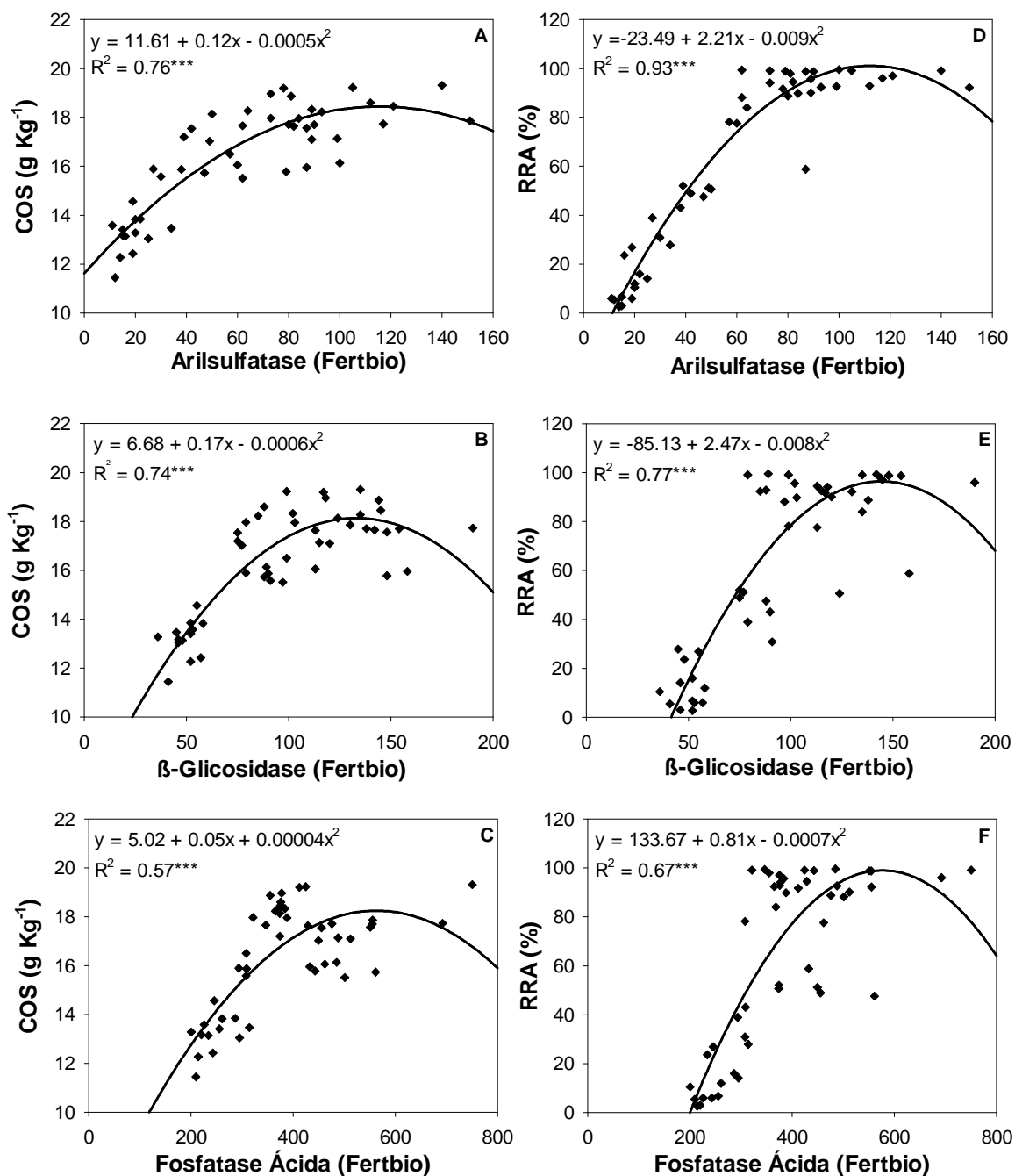
**Figura 4** - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase (A),  $\beta$ -glicosidase (B) e fosfatase ácida (C) determinadas nas fases de floração/solo úmido e na pós-colheita/solo seco, nos anos e 2013 e 2015. A figura D mostra as relações entre os teores de COS determinados nas duas épocas. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Valores de atividade de  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ . Carbono orgânico do solo (COS) expresso em  $\text{g kg}^{-1}$ .

As relações individuais entre as três enzimas do solo, o rendimento relativo acumulado de grãos (RRA) e os teores de COS obtidos a partir dos 24 tratamentos para as amostras FERTBIO (pós-colheita/solo seco) são apresentadas na Figura 5. Modelos quadráticos foram ajustados para as três enzimas e evidenciam o aumento

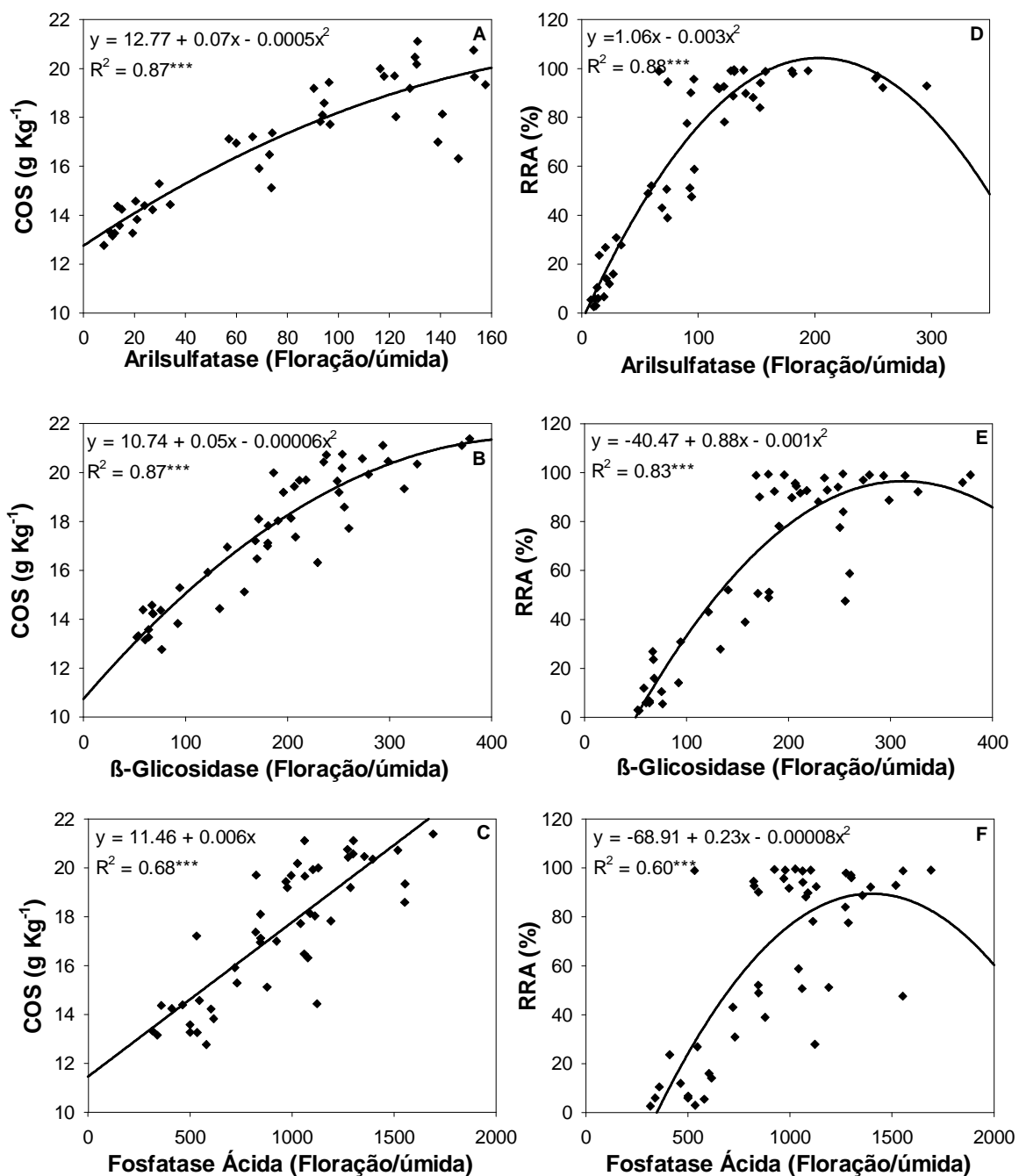
na atividade enzimática decorrente do aumento de RRA e do COS, até que um nível ótimo seja atingido. As relações apresentadas na Figura 5 mostram claramente que, nestes três experimentos de longa duração, além do aumento no rendimento de grãos, os aumentos significativos na quantidade de resíduos retornados ao solo pelas culturas - em resposta a diferentes doses e formas de aplicação do fertilizante fosfatado super triplo - favoreceram, ao longo do tempo, a formação de um gradiente de COS. Esse gradiente afetou as comunidades microbianas e modulou os níveis de atividade enzimática do solo.

A comparação das relações individuais entre as três enzimas do solo, o RRA e os teores de COS obtidos para a amostragem FERTBIO (Figura 5), com essas mesmas relações determinadas na floração/solo úmido (Figura 6), mostra que, para as duas amostragens, foram obtidos modelos com bons ajustes ( $R^2$ ). Para as enzimas arilsulfatase e  $\beta$ -glicosidase, os coeficientes de determinação foram superiores a 0,7. Como nas duas amostragens a enzima fosfatase ácida sempre apresentou os modelos com menores  $R^2$ , verifica-se que a redução do nível de atividade, na amostragem pós-colheita/solo seco, não interferiu no ajuste dos modelos.

Como todas as enzimas foram correlacionadas positivamente com o RRA e com o COS, por meio das análises de regressão apresentadas nas Figuras 5 e 6, foi possível realizar a delimitação de classes de suficiência para cada uma, em função do RRA e do COS, de acordo com os critérios propostos por Lopes et al. (2013):  $\leq 40\%$ : baixo; de 41% a 80%: moderado e  $> 80\%$ : adequado. Assim, foram construídas tabelas de interpretação para as enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida utilizando o conceito de amostra FERTBIO (Tabela 4).



**Figura 5** - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida com o COS (A, B e C) e com o RRA (D, E e F), determinadas na fase pós-colheita/solo seco, nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Valores de atividade de  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ .



**Figura 6** - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase, β-glicosidase e fosfatase ácida com o COS (A, B e C) e com o RRA (C, D e E), determinadas na fase floração/solo úmido, nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Valores de atividade de β-glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ .

**Tabela 4** - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de carbono orgânico do solo, utilizando o conceito de amostra FERTBIO (pós-colheita/solo seco).

Enzimas <sup>(1)</sup>	Níveis de atividade enzimática no solo		
	Baixo	Moderado	Adequado
Com base no rendimento relativo acumulado			
Arilsulfatase	≤ 33	34 a 65	> 66
β-Glicosidase	≤ 65	66 a 100	> 101
Fosfatase ácida	≤ 286	287 a 411	> 412
Com base no teor de carbono orgânico do solo			
Arilsulfatase	≤ 30	31 a 69	> 70
β-Glicosidase	≤ 63	64 a 107	> 108
Fosfatase ácida	≤ 268	267 a 401	> 402

<sup>(1)</sup> Valores de atividade de β-glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase expressos em µg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>.

Da mesma forma, a partir das relações apresentadas na Figura 6, foram construídas tabelas de interpretação para as enzimas arilsulfatase, β-glicosidase e fosfatase ácida com base nas amostragens realizadas na floração/solo úmido (Tabela 5).

Para a interpretação dos bioindicadores em função do COS, inicialmente foram definidos níveis críticos de COS, com base nas relações destes teores com o RRA (Figura 7). Os níveis críticos de COS, equivalentes a 80% do RRA, para as amostras FERTBIO e floração/solo úmido foram 17,4 g kg<sup>-1</sup> e 18,8 g kg<sup>-1</sup> solo, respectivamente. Os níveis críticos de COS equivalentes a 40% do RRA, para as

amostras FERTBIO e floração/solo úmido foram 14,7 g kg<sup>-1</sup> e 15,6 g kg<sup>-1</sup> solo, respectivamente. Com base nos valores desses níveis críticos de COS, foram obtidos os valores correspondentes para os atributos microbiológicos para as amostras FERTBIO (Figura 5) e floração/solo úmido (Figura 6).

**Tabela 5** - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de matéria orgânica do solo, com amostras coletadas na floração/solo úmido.

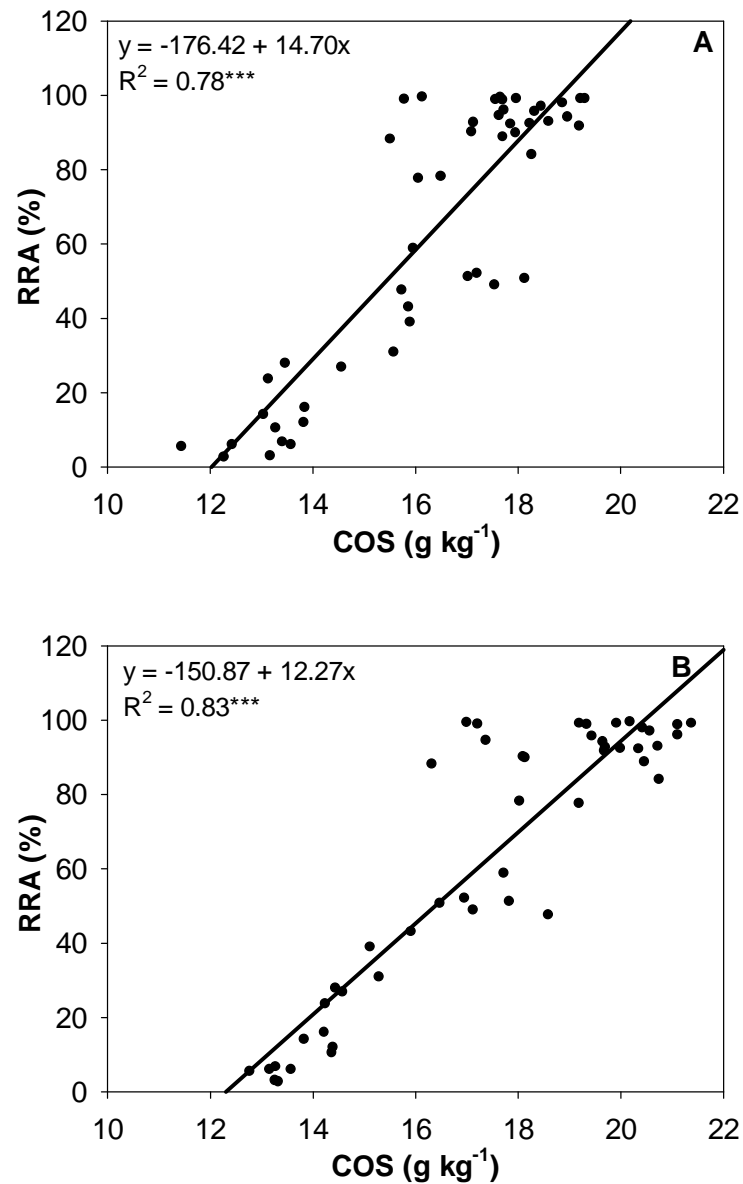
Enzimas <sup>(1)</sup>	Níveis de atividade enzimática no solo		
	Baixo	Moderado	Adequado
	Com base no rendimento relativo acumulado		
Arilsulfatase	≤ 46	47 a 105	> 106
β-Glicosidase	≤ 111	112 a 202	> 203
Fosfatase ácida	≤ 614	615 a 1038	> 1039
	Com base no teor de carbono orgânico do solo		
Arilsulfatase	≤ 43	44 a 101	> 102
β-Glicosidase	≤ 115	116 a 232	> 233
Fosfatase ácida	≤ 633	614 a 1106	> 1107

<sup>(1)</sup> Valores de atividade de β-glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase expressos em µg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>.

Em relação às tabelas geradas com base nos dados obtidos na floração/solo úmido (Tabela 5), verifica-se que as tabelas de interpretação com base no conceito FERTBIO (Tabela 4), apresentam, como característica principal, uma redução significativa na amplitude das classes de interpretação. Por exemplo, na tabela

FERTBIO, os NC's baixo e adequado, para a arilsulfatase com base no RRA, foram de 33 e 66  $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , respectivamente, o que dá uma amplitude de apenas 33 unidades entre esses dois extremos. Para a  $\beta$ -glicosidase e para a fosfatase ácida, essa amplitude foi de 36 e 126 unidades, respectivamente. Em contrapartida, nas amostras floração/solo úmido, as amplitudes entre as classes de interpretação baixas e adequadas, para as enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida, com base no RRA, foram respectivamente: 60, 92 e 425, ou seja, 1,8, 2,5 e 3,4 vezes maiores que as amplitudes das amostras FERTBIO. Esse estreitamento na amplitude das classes de interpretação baixo/adequado pode, em sua grande parte, ser atribuído ao efeito da secagem do solo ao ar, conforme também observado por Lopes et al. (2015).





**Figura 7** - Relações entre o rendimento relativo acumulado de grãos (RRA) e carbono orgânico do solo (COS), determinadas com base nas amostras FERTBIO (A) e coletadas na fase de floração/solo úmido (B), nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ .

### 3.2. PÓS-COLHEITA/SOLO ÚMIDO X PÓS-COLHEITA/SOLO SECO (FERTBIO)

O efeito específico da secagem do solo ao ar, com amostras coletadas na fase de pós-colheita, também foi avaliado nesse estudo. Para tanto, foram realizadas determinações de atividade enzimática antes (solo úmido) e após a secagem ao ar com solo coletado na fase de pós-colheita. Nos dois anos avaliados, a comparação dos dados médios de atividade enzimática dos solos coletados na fase de pós-colheita, antes da secagem ao ar (Tabela 6) com os dados obtidos nessa mesma época de amostragem após a secagem ao ar (Tabela 3), são sumarizadas na Figura 3. Houve uma redução significativa (Wilcoxon Signed Rank test,  $p < 0,001$ ) nos níveis de atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase (22%), e fosfatase ácida (53%) após a secagem do solo ao ar (pós-colheita/solo seco). Os níveis de atividade da arilsulfatase não sofreram alterações significativas após a secagem.

Novamente, a fosfatase ácida foi a enzima que apresentou a maior redução na atividade em função da secagem ao ar. Nas determinações efetuadas com as amostras coletadas na pós-colheita/solo úmido, os valores de atividade da fosfatase ácida variaram entre 412 a 1372  $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (Tabela 6). Para as amostras pós-colheita/solo seco, os valores de atividade variaram entre 200 e 750  $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

Uma regressão quadrática e duas regressões lineares (Figura 8), entre os dois conjuntos de amostras (pós-colheita/solo úmido e pós-colheita/solo seco), foram ajustadas para todas as enzimas avaliadas. Baseados nos valores de  $R^2$ , os modelos com melhor ajuste foram o da arilsulfatase (modelo linear,  $R^2 = 0,82$ ) e o da  $\beta$ -glicosidase (modelo quadrático,  $R^2 = 0,68$ ). Um baixo valor de  $R^2$  foi obtido para o

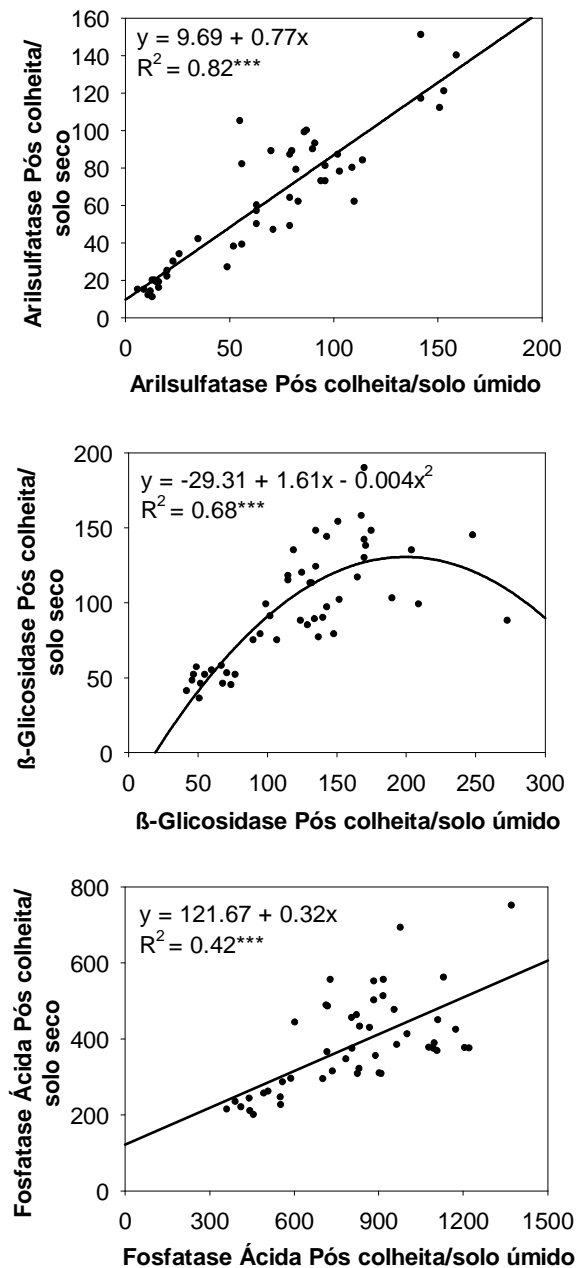
modelo ajustado para a fosfatase ácida (modelo linear,  $R^2 = 0,42$ ), embora os parâmetros do modelo tenham sido significativos ( $P < 0,001$ ). Os coeficientes de inclinação dos modelos de regressão lineares entre as amostras pós-colheita/solo úmido e pós-colheita/ solo seco (Figura 8) para a arilsulfatase e para a fosfatase ácida foram de 0,77 e 0,32, evidenciando que os efeitos da secagem ao ar foram mais expressivos para a fosfatase ácida (maior afastamento da relação 1:1).

Nos três experimentos avaliados, de uma maneira geral, a secagem ao ar não interferiu significativamente no ranqueamento dos tratamentos (Tabela 7). Entretanto, duas exceções foram observadas. No experimento 2, o tratamento 13, que antes da secagem ao ar estava entre os tratamentos com maior atividade de  $\beta$ -glicosidase, após a secagem, agrupou-se junto aos de atividade intermediária. No experimento 3, o tratamento 21 que antes da secagem ao ar, possuía um nível intermediário de atividade da fosfatase ácida, passou a ser agrupado junto aos tratamentos de maior atividade, após a secagem.

**Tabela 6** - Atividade enzimática, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015 na fase pós-colheita/solo úmido.

Tratamentos	$\beta$ -Glicosidase		Arilsulfatase		Fosfatase Ácida	
	2013	2015	23	2015	2013	2015
1	52	47	6	12	412	361
2	55	49	9	15	493	441
3	67	51	14	13	508	456
4	77	68	20	20	559	589
5	60	46	16	16	552	392
6	165	125	103	70	1002	917
7	152	132	80	56	965	869
8	209	204	55	159	1175	1372
9	107	90	56	35	807	805
10	129	115	91	86	717	714
11	148	134	96	87	832	719
12	137	124	79	71	1111	1132
13	273	170	151	142	1206	918
14	248	170	153	142	1222	978
15	140	95	52	49	903	702
16	190	143	114	110	1098	884
17	170	135	83	82	785	603
18	71	42	13	11	553	444
19	115	175	94	102	1079	884
20	102	74	23	26	826	736
21	143	151	96	90	890	729
22	99	131	63	63	910	823
23	119	171	79	109	1108	956
24	135	168	63	79	1095	834
Médias	132	117	67	69	867	761

<sup>(1)</sup> Valores de atividade de  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ .



**Figura 8** - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida, determinadas nas fases de pós-colheita/solo úmido e na pós-colheita/solo seco, nos anos 2013 e 2015. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Valores de atividade de  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ .

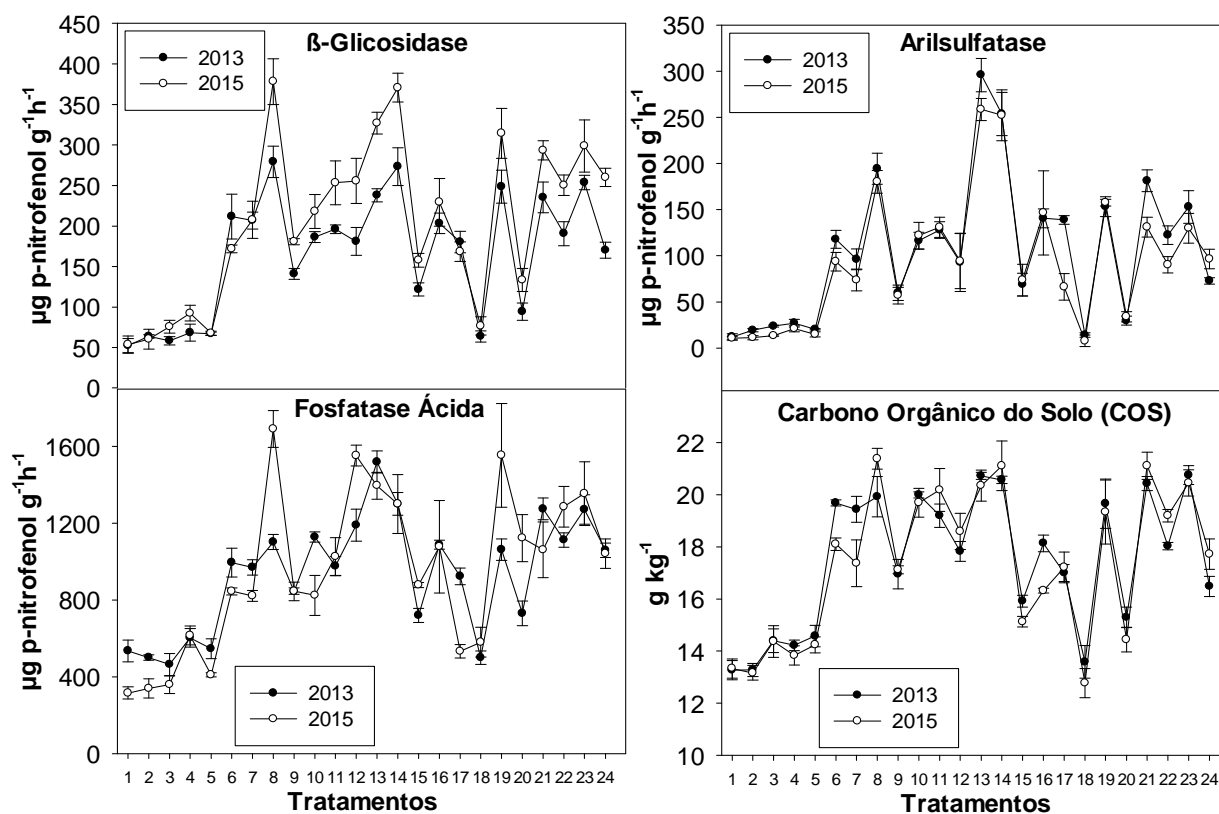
**Tabela 7** - Atividade enzimática de um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado antes e após a secagem ao ar. Amostragem realizada na fase pós-colheita, na camada de 0 - 10 cm Os dados representam médias de dois anos (2013 e 2015).

Tratamentos	β-Glicosidase		Arilsulfatase		Fosfatase Ácida	
	Úmido	Seco	Úmido	Seco	Úmido	Seco
Experimento I						
1	50 c	49 b	9 c	15 c	387 d	217 c
2	52 c	54 b	12 c	17 c	467 cd	250 c
3	59 c	47 b	13 c	20 c	482 cd	231 c
4	73 c	48 b	20 c	23 c	574 c	291 c
5	53 c	51 b	16 c	17 c	472 cd	240 c
6	145 b	117 a	87 ab	82 b	960 b	462 b
7	142 b	106 a	68 b	85 b	917 b	407 b
8	207 a	116 a	107 a	125 a	1274 a	587 a
CV(%)	16,9	19	57,8	25	13,0	23,6
Experimento II						
9	99 e	75 d	46 d	40 d	806 c	415 c
10	122 de	99 cd	89 c	95 b	716 c	427 bc
11	141 bcd	89 cd	92 c	86 bc	776 c	403 c
12	131 cd	81 d	75 c	47 d	1122 a	505 ab
13	222 a	108 c	147 a	130 a	1062 ab	466 abc
14	209 a	166 a	148 a	118 a	1100 a	534 a
15	118 de	83 d	51 d	32 d	803 c	302 d
16	167 b	98 cd	112 b	71 c	991 b	445 bc
17	153 bc	143 b	83 c	70 c	694 c	395 c
CV(%)	15	18	17,1	22,1	11,3	16,2
Experimento III						
18	57 d	47 c	12 c	12 e	499 d	218 c
19	145 a	132 a	98 a	80 ab	982 a	464 a
20	88 c	67 c	25 c	32 d	781 c	311 b
21	147 a	147 a	93 a	84 a	810 c	455 a
22	115 bc	105 b	63 b	59 c	867 bc	385 a
23	145 ab	134 a	94 a	71 abc	1032 a	422 a
24	152 a	140 a	71 b	68 bc	965 ab	403 a
CV(%)	20,5	17,6	20,3	20,4	10,2	16,3

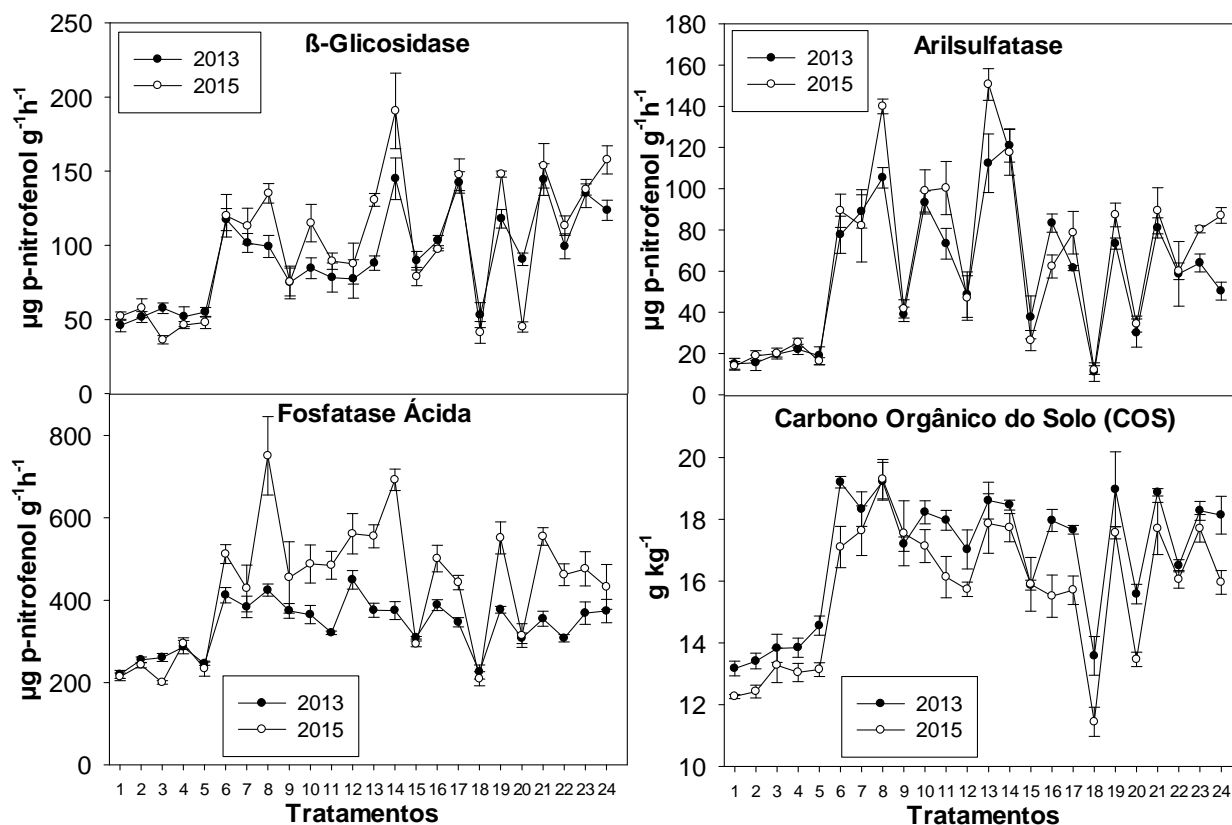
Valores de atividade da β-Glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em µg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>. Valores seguidos pelas mesmas letras, na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Duncan (p < 0,05).

### 3.3. VARIAÇÃO INTERANUAL DOS ATRIBUTOS

Nas figuras 9 e 10 são sumarizados os dados de atividade enzimática e de COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, com as amostras de solo coletadas nas amostragens floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco. A contribuição dos fatores ano e tratamento e de sua interação, na variância total das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida e no carbono orgânico do solo, é apresentada na Tabela 8.



**Figura 9** - Atividade enzimática e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem floração/solo úmido. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão.



**Figura 10** - Atividade enzimática e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem pós-colheita/solo seco. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão.

As variâncias totais obtidas na época pós-colheita/solo seco foram menores que as da floração/solo úmido (Tabela 8), o que pode ser atribuído ao efeito da secagem das amostras de solo ao ar. Ao reduzir a amplitude (diferença entre o maior e o menor valor de cada parâmetro, em cada amostragem), a secagem do solo também diminui a variabilidade associada a esses parâmetros.



**Tabela 8** - Contribuição (%) dos fatores tratamento, ano e de sua interação na variância total das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida e no carbono orgânico do solo (COS) nas amostragens realizadas nas fases floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco.

Componente da variância <sup>(1)</sup>	$\beta$ -glicosidase	Arilsulfatase	Fosfatase Ácida	COS
-----Floração/solo úmido % de contribuição -----				
Tratamento	77,8	87,6	64,4	85,4
Ano	7,7	0,9	0	1,2
Tratamento x Ano	6,1	2,2	16,9	3,5
Erro	4,81	3,84	14,1	5,5
Variância total	9017	5960	149176	8,1
----- Pós- colheita/solo seco % de contribuição -----				
Tratamento	75,7	82,8	41,8	73,2
Ano	1,3	1,2	21,3	11,0
Tratamento x Ano	9,1	5,3	22,6	1,7
Erro	13,5	7,1	11,8	10,9
Variância total	1647	1506	19499	5,67

<sup>(1)</sup> O componente da variância (REP(Trat)) não foi apresentado.

Também se verifica na Tabela 8 que, nas duas amostragens (floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco), as maiores e menores variâncias totais foram observadas para a fosfatase ácida e para o carbono orgânico do solo, respectivamente. O fator tratamento foi o que mais contribuiu para a variância dos parâmetros avaliados ( $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase, fosfatase ácida e carbono orgânico do solo). Independentemente da época de avaliação, essa contribuição sempre foi superior a 70% para os parâmetros  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e carbono orgânico do solo.

Na amostragem pós-colheita/solo seco, a contribuição do fator tratamento na variância da enzima fosfatase ácida foi de apenas 41,8%, a menor registrada nesse

estudo para esse fator. Em contrapartida, as percentagens da variância total associadas aos fatores ano e a interação ano x tratamento, 21,3% e 22,6%, respectivamente, foram as maiores registradas no estudo. Como a fosfatase ácida foi o parâmetro mais afetado pela secagem do solo ao ar, é possível que o processo de secagem tenha sido o fator determinante para aumentar a variabilidade anual desse parâmetro, diferentemente do que foi observado para as enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase.

#### **4. DISCUSSÃO**

As avaliações realizadas nos anos de 2013 e 2015, com amostras de três experimentos de longa duração, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, revelaram que a amostragem realizada na fase de pós-colheita com secagem do solo ao ar resultou em reduções significativas na atividade das enzimas arilsulfatase (38%),  $\beta$ -glicosidase (47%) e fosfatase ácida (59%), em comparação com a amostragem tradicional para microbiologia, realizada na fase de florescimento das culturas e com solo úmido. Apesar das significativas reduções, a mudança na época de amostragem associada ao processo de secagem ao ar não alterou as relações dessas enzimas com COS e nem com o rendimento acumulado de grãos desses experimentos. Além disso, por meio de regressões lineares entre os dois conjuntos de amostras (floração/solo úmido e pós-colheita solo seco), verificou-se que a amostragem pós-colheita solo seco foi representativa das condições verificadas na floração/solo úmido.

A redução na atividade enzimática, após a secagem do solo ao ar, está relacionada à morte de células microbianas, com consequente rompimento da parede celular e liberação de enzimas para o solo (Ladd, 1985; Gianfreda & Bollag, 1996; Nannipieri et al., 2012) e a processos de desnaturação enzimática. Entretanto, embora vários estudos na literatura mencionem reduções na atividade enzimática com a secagem (Abellan et al., 2011; Bandick & Dick, 1999; Lee et al, 2007; Pancholy & Rice, 1972; Wallenius et al., 2010); existem relatos de aumentos na atividade enzimática com a secagem (Bandick & Dick, 1999; Eivazi & Tabatabai, 1977; Eivazi & Tabatabai, 1990; Gianfreda & Bollag, 1996; Longo & Melo, 2005); de ausência de alterações (Zornoza et al., 2006) e de efeitos erráticos (Rao et al., 2003).

Como os efeitos do processo de secagem ao ar na atividade enzimática são bastante variáveis, pesquisas locais são necessárias, pois a magnitude da resposta depende não só da enzima avaliada, mas, do tipo de solo. Um estudo anterior, nesses mesmos experimentos (Lopes et al. 2015), revelou reduções significativas nas atividades das enzimas arilsulfatase (52%),  $\beta$ -glicosidase (23%) e fosfatase ácida (72%), utilizando amostras coletadas na fase de florescimento da soja, secas ao ar e armazenada por 2 anos. No presente estudo, onde também foram comparadas as atividades enzimáticas em amostras pós-colheita/solo úmido com amostras pós-colheita/solo seco, verificou-se que a arilsulfatase não foi afetada e que as reduções na atividade da  $\beta$ -glicosidase e da fosfatase ácida foram de 23% e 53%, respectivamente.

Como consequência da redução na atividade enzimática em função da secagem ao ar, também foram verificadas reduções na variabilidade dos dados,

conforme também reportado por Haney et al. (2004). Dessa forma, as tabelas de interpretação para atividade enzimática geradas usando conceito de amostra FERTBIO (pós-colheita/solo seco) apresentam, como característica principal, uma redução significativa na amplitude das classes de interpretação. Como o estreitamento da amplitude entre as classes de interpretação pode representar uma desvantagem no uso da amostra FERTBIO (uma vez que os limites entre as classes ficam mais próximos), verifica-se a importância da validação desse novo conceito com amostras coletadas em nível de fazendas. Essa validação é fundamental tendo em vista que, muitas vezes, as condições das parcelas experimentais não permitem um manejo que seja plenamente coincidente com a sistemática de uso de fertilizantes, defensivos e práticas culturais adotadas na agricultura comercial.

As tabelas geradas usando o conceito FERTBIO representam um passo adicional, em relação às primeiras tabelas publicadas por Lopes et al., (2013), pois incorporam um conceito de época de amostragem e de pré-tratamento do solo mais realista e próximo do que é praticado nas lavouras e nos laboratórios comerciais de análises de solo no Brasil. Deve ser destacado que, diferentemente das primeiras tabelas publicadas, a tabela FERTBIO usa dados de dois anos de amostragem, o que confere maior robustez aos Níveis Críticos (NC's) calculados.

Em relação à tabela gerada com os dados da floração/solo úmido, com exceção da  $\beta$ -glicosidase, os níveis de interpretação encontrados neste trabalho foram similares aqueles descritos por Lopes et al. (2013).

A questão da variabilidade das determinações de atividade enzimática ao longo do tempo também foi avaliada nesse estudo comparando os dados de 2013 x 2015, nas duas épocas de amostragem: floração/solo úmido e pós-colheita/seco. Por meio

de uma análise de componentes de variância, verificou-se que, com exceção da fosfatase ácida determinada na fase de pós-colheita/solo seco, os componentes da variância ligados ao fator ano (ano e interação tratamento x ano) para a arilsulfatase e  $\beta$ -glicosidase foram baixos (< 10%) e semelhantes aos do carbono orgânico do solo. Entre os pré-requisitos básicos para o uso de parâmetros microbiológicos no monitoramento de áreas ao longo do tempo, Tscherko & Kandeler (1999) destacaram baixo desvio padrão e baixa variação ao longo do tempo. Como esses aspectos também são importantes na recomendação da adoção de um parâmetro em análises de rotinas comerciais, o presente estudo evidencia as vantagens da adoção da arilsulfatase e da  $\beta$ -glicosidase em análises comerciais de solo, como parâmetros indicadores do seu biofuncionamento.

A atividade hidrolítica das enzimas do solo é um somatório das atividades intracelulares, localizadas internamente nas células (atividade biótica), e extracelulares (abiônica), que são associadas a enzimas adsorvidas nos colóides do solo (fração argila e matéria orgânica). Nos estudos de monitoramento, verificou-se que apenas a enzima fosfatase ácida apresentou aumento na variabilidade anual em resposta ao processo de secagem do solo ao ar na amostragem pós-colheita/solo seco. Esse fato pode estar relacionado a uma distribuição diferenciada da atividade hidrolítica dessa enzima nos solos do cerrado, em comparação a  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase. Uma hipótese é de que a maior parte da atividade hidrolítica da fosfatase ácida esteja associada à atividade biônica, o que explicaria a redução significativa da sua atividade com a secagem ao ar. No caso da  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase, ocorreria o oposto, com maior parte da atividade associada ao

componente abiótico. Este componente, por ser mais estabilizado, seria menos impactado por fatores ambientais tais como a secagem (Knight & Dick, 2004).

De acordo com Mendes et al. (2015), no rol de características desejáveis para a seleção de bioindicadores que possam ser utilizados nas análises de rotina, podem-se listar: precisão, coerência, sensibilidade, simples determinação analítica, estarem ligados à ciclagem da matéria orgânica do solo, não serem influenciados pela aplicação de adubos e envolverem o uso de reagentes baratos e fora da lista de controle do Exército. Além dessas características, a inclusão de aspectos tais como adequação à amostragem após a colheita das culturas e aos procedimentos adotados no pré-tratamento das amostras de solo para as análises de fertilidade, também deve ser levada em consideração. Nesse sentido, os resultados deste estudo para viabilização da amostra FERTBIO permitem vislumbrar a possibilidade de que, em um futuro próximo, além dos atributos químicos e físicos, determinações de atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase poderão também fazer parte das rotinas de análises de solo e de índices de qualidade de Latossolos argilosos da região do Cerrado.

A viabilidade da amostra FERTBIO em outros solos (por exemplo, os Neossolos Quartzarênicos) e locais do Brasil, deverá ser objeto de estudos futuros. Conforme destacado por Mendes et al. (2015), a inclusão dos atributos microbiológicos nas análises de rotina de solo será mais um aliado para os agricultores, incentivando aqueles que já estão adotando sistemas de manejo conservacionistas e alertando os que usam sistemas de manejo que degradam o solo.

## 5. CONCLUSÕES

1. A amostragem realizada na fase de pós-colheita com secagem do solo ao ar promoveu reduções significativas na atividade das enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida, em comparação com a amostragem realizada na fase de florescimento das culturas e com solo úmido.
2. A mudança na época de amostragem associada ao processo de secagem ao ar não alterou as relações das enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida com COS e nem com o rendimento acumulado de grãos.
3. A amostragem pós-colheita/solo seco foi representativa das condições verificadas na floração/solo úmido.
4. A baixa variabilidade anual das enzimas arilsulfatase e  $\beta$ -glicosidase, nas duas épocas de amostragem, é mais uma vantagem que facilita a sua adoção em análises comerciais de solo como parâmetros indicadores do seu biofuncionamento.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELLAN, M.A.; BAENA, C.W.; MOROTE, F.A.G.; CORDOBA, M.I.P.; PEREZ, D.C.; Influence of the soil storage method on soil enzymatic activities in Mediterranean forest soils. **Forest Systems**, v.20, p.379 – 388, 2011. doi: 10.5424/fs/20112003-11081

BANDICK, A.K.; DICK, R.P.; Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology & Biochemistry**, v.31, p.1471 – 1479, 1999. doi: 10.1016/S0038-0717(99)00051-6

DANKE, W.C.; OLSON, R.A.; Soil rest correlation, calibration and recommendation. In: WESTERMAN, R. L. (Ed.) **Soil Testing and Plant Analysis**. Madison: ASA, CSSA, and SSSA. ASA Spec. Publ., p. 47 – 51, 1990.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M.A.; Phosphatases in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v.9, p,167 - 172, 1977. doi:10.1016/0038-0717(77)90070-0

EIVAZI, F.; TABATABAI, M.A.; Factors affecting glucosidase and galactosidase activities in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v.22, p.891 - 897, 1990. doi:10.1016/0038-0717(90)90126-K



GIANFREDA, L.; BOLLAG, J-M.; Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. In: STOTZKY, G.,;BOLLAG, J-M.; (Eds), **Soil biochemistry**, 9, Marcel Dekker, New York, pp.123 - 194, 1996.

HANEY, R.L.; FRANZLUEBBERS, A.J.; PORTER, E.B.; HONS, F.M.; ZUBERER, D.A.; Soil carbon and nitrogen mineralization: influence of drying temperature. **Soil Science Society of America Journal**, v.68, p.489 - 492, 2004. doi: 10.2136/sssaj2004.0489

JACKSON, M. L.; **Análisis Químico de Suelos**. 2ª ed. MARTINEZ, J.B.; (Ed.) Trad. Barcelona, Ed. Omega S.A., 662 p. 1970.

KNIGHT, T.R.; DICK, R.P.; Differentiating microbial and stabilized  $\beta$ -glucosidase activity relative to soil quality. **Soil Biology & Biochemistry**, v.36, p.2089 - 2096, 2004. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.06.007

LADD, J.N.; Soil enzymes. In: VAUGHAM, D.; MALCOM, R.E.; (Eds), **Soil organic matter and biological activity**. Nijhoff, Dordrecht, Boston, pp. 175-221, 1985.

LEE, Y.B.; LORENZ, N.; DICK, L.K.; DICK, R.P.; Cold storage and pretreatment incubation effects on soil microbial properties. **Soil Biology & Biochemistry**, v.71, p.1299 - 1305, 2007. doi: 10.2136/sssaj2006.0245

LONGO, R.M.; MELO, W.J.; 2005. Hidrólise da uréia em Latossolos: efeito da concentração de uréia, temperatura, pH, armazenamento e tempo de incubação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 29, p.645 - 650, 2005. doi:10.1590/S0100-06832005000400018

LOPES, A.A.C.; SOUSA, D.M.G.; CHAER, G.M.; REIS JUNIOR, F.B.; GOEDERT, W.J.; MENDES, I.C.; Interpretation of Microbial Soil Indicators as a Function of Crop Yield and Organic Carbon. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p.461 - 472, 2013. doi: 10.2136/sssaj2012.0191

LOPES, A.A.C.; SOUSA, D.M.G.; REIS JUNIOR, F.B.; MENDES, I.C.; Air-drying and long-term storage effects on  $\beta$ -glucosidase, acid phosphatase and arylsulfatase activities in a tropical Savannah Oxisol. **Applied Soil Ecology**, v. 93, p. 68-77, 2015.

LORENZ, N.; DICK, R.P.; Sampling and Pretreatment of soil before enzyme analysis, In: DICK, R.P.; (Ed.), **Methods of Soil Enzymology**. SSSA Book Series 9., Madison, pp. 85 - 101, 2011.

MENDES, I.C.; SOUSA, D.M.G.; REIS JUNIOR, F.B.; Bioindicadores de qualidade de solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v.32, p.191, 2015.

NANNIPIERI, P.; GIAGNONI, L.; RENELLA, G.; PUGLISI, E.; CECCANTI, B.; MASCIANDARO, G.; FORNASIER, F.; MOSCATELLI, M.C.; MARINARI, S.; Soil

enzymology: classical and molecular approaches. **Biology and Fertility of Soils**, v.48, p.743 – 762, 2012.

PANCHOLY, S.K.; RICE, E.L.; Effect of storage conditions on activities of urease, invertase, amylase, and dehydrogenase in soil. **Soil Science Society of America, Proceedings**, v.36, p.536 - 537, 1972. doi: 10.2136/sssaj1972.03615995003600030046x

PEIXOTO, R.S.; CHAER, G.M.; FRANCO, N.; REIS JR, F.B.; MENDES, I.C.; ROSADO, A.S.; A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.98, p.403 - 413, 2010. doi:10.1007/s10482-010-9454-0

RAO, M.A.; SANNINO, F.; NOCERINO, G.; PUGLISI, E.; GIANFREDA, L.; Effect of air-drying treatment on enzymatic activities of soils affected by anthropogenic activities. **Biology and Fertility of Soils**, v.38, p.327 - 332, 2003. doi: 10.1007/s00374-003-0660-z

SANZONOWICKZ, C.; Amostragem de solo, corretivos e fertilizantes. In: SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E.; (eds.) **Cerrado: Correção do solo e adubação**. 2ª ed. Planaltina, Embrapa Cerrados, pp.63 - 80, 2004.

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

TSCHERKO, D.; KANDELER, E.; Classification and monitoring of soil microbial biomass, N-mineralization and enzyme activities to indicate environmental changes. **Die Bodenkultur 50(4)** - November, 1999.

WALKLEY, A.A.; Critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. **Soil Science**, v.63, p.251 - 263, 1947.

WALKLEY, A.; BLACK, I.A.; An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, v.37, p.29 - 38, 1934.

WALLENIUS, K.; RITA, H.; SIMPANEN, S.; MIKKONEN, A.; NIEMI, R.M.; Sample storage for soil enzyme activity and bacterial community profiles. **Journal of Microbiological Methods**, v.81, p.48 - 55, 2010. doi:10.1016/j.mimet.2010.01.021

ZORNOZA, R.; GUERRERO, C.; MATAIX, S.J.; ARCENEGUI, V.; GARCÍA, F.; MATAIX, B.J.; Assessing air-drying and rewetting pre-treatment effect on some enzyme activities under Mediterranean conditions. **Soil Biology & Biochemistry**, v.38, p.2125 - 2134, 2006. doi:10.1016/j.soilbio.2006.01.010

**CAPÍTULO 2:**  
**TABELAS DE INTERPRETAÇÃO PARA O CARBONO E NITROGÊNIO DA**  
**BIOMASSA MICROBIANA E PARA AS ENZIMAS DESIDROGENASE,**  
**FOSFATASE ALCALINA, UREASE E FDA**

## RESUMO

Para que os bioindicadores possam ser utilizados em análises de rotina de solo é fundamental a identificação de atributos que apresentem sensibilidade às atividades agropecuárias. Além disso, é necessário transpor a dificuldade existente na interpretação dos valores individuais de cada parâmetro. Assim, o objetivo deste capítulo foi desenvolver tabelas de interpretação para o carbono da biomassa microbiana - CBM (determinado via combustão em alta temperatura, em um analisador de C orgânico), para o nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) e para as atividades da urease, fosfatase alcalina, desidrogenase e hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA). Para a geração das tabelas de interpretação, as amostras de solo foram coletadas, na profundidade de 0 a 10 cm, na fase de floração e após a colheita das culturas, usando o conceito FERTBIO (determinações microbiológicas com solo seco). A variação interanual desses bioindicadores nos anos de 2013 e 2015 também foi avaliada nas duas condições de amostragem de solo: floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco. O estudo foi conduzido em três experimentos de longa duração conduzidos em um Latosolo Vermelho de textura argilosa, em que 24 tratamentos foram selecionados por constituírem um gradiente de matéria orgânica do solo e de rendimento acumulado de grãos de soja e de milho, em função de diferentes doses e modos de aplicação de fósforo. Os gradientes de RRA e de COS influenciaram o CBM, a desidrogenase, a fosfatase alcalina e a urease, possibilitando a delimitação de classes de suficiência. O NBM e a FDA não foram capazes de diferenciar os tratamentos e não tiveram suas variações associadas ao RRA e ao COS, impossibilitando a delimitação de classes de suficiência. Com

exceção da urease, a amostragem realizada na pós-colheita/solo seco resultou em reduções nos níveis do NBM (49%), CBM (23%), desidrogenase (42%), fosfatase alcalina (64%) e FDA (16%) quando comparados aos dados da floração/solo úmido. Essas reduções promoveram estreitamento na amplitude das classes de interpretação baixo/adequado. A FDA foi o único parâmetro para o qual a amostragem pós-colheita/solo seco não foi representativa da amostragem floração/solo úmido. Entre os bioindicadores avaliados neste capítulo, o CBM e a desidrogenase foram os que apresentaram as melhores características para o monitoramento de áreas agrícolas ao longo do tempo.

**Palavras-chave:** Interpretação de bioindicadores, qualidade do solo, atividade enzimática, pré-tratamento do solo.

## ABSTRACT

Biological indicators must be sensitive to changes in soil management. In addition, it is necessary to overcome problems related to the interpretation of the individual values of these parameters. The aim of this chapter was to develop interpretation tables for microbial biomass carbon - MBC (determined by combustion at high temperature in an organic C analyzer), microbial biomass nitrogen (MBN) and for the soil enzymes urease, alkaline phosphatase, dehydrogenase and for the fluorescein diacetate hydrolysis (FDA) assay. During a two-year period (2013 and 2015), soil samples (0 to 10 cm) were collected at the flowering and at the post-harvest stage, in 24 treatments from three long-term experiments. Samples were analyzed to determine their enzyme activities and soil organic carbon (SOC) content. These treatments presented a gradient of extractable Mehlich-P values and relative cumulative corn and soybean yields (RCY). The relative cumulative yields (RCY) and SOC gradients influenced MBC, dehydrogenase, alkaline phosphatase and urease, allowing the delimitation of sufficiency classes. MBN and FDA were not able to differentiate the treatments and did not have their variances associated with the RCY and SOC, making it impossible to define sufficiency classes. With the exception of urease, air-drying at the post harvest stage resulted in reductions in the MBN (49%), MBC (23%), dehydrogenase (42%), alkaline phosphatase (64%) and FDA (16%) when compared to the field-moist samples collected at the flowering stage. A reduction in the range of low/adequate interpretation classes occurred as a consequence of the air-drying. FDA was the only parameter for which the air-dried/post-harvest sampling did not represent the field-moist/flowering stage. Among



the bioindicators evaluated in this chapter, the MBC and dehydrogenase were those with the best features for monitoring agricultural areas over time.

**Key Words:** Interpretation of bioindicators, soil quality, soil enzymes, soil pre-treatment

## 1. INTRODUÇÃO

Em recente análise de 57 trabalhos publicados no Brasil, no período de 2000 a 2014, abordando aspectos relacionados à biomassa e à atividade microbiana de solos sob sistema de plantio direto (SPD), Mendes (2014) verificou que, por ainda não existir um consenso sobre um conjunto mínimo de parâmetros microbiológicos a serem avaliados nesses estudos, a lista de parâmetros avaliados é bem ampla, englobando 21 parâmetros. Também foi verificado que não existe padronização com relação à profundidade de amostragem, à época de coleta de amostras e nem quanto às metodologias usadas nessas determinações. O carbono da biomassa microbiana, a respiração basal (carbono prontamente mineralizável), o nitrogênio da biomassa e a atividade enzimática foram os parâmetros mais avaliados, aparecendo, respectivamente, em 46, 33, 21 e 16 publicações. A fosfatase ácida é a enzima mais estudada, aparecendo em 9 publicações, seguida pela urease,  $\beta$ -glicosidase e pela FDA, com 5 publicações cada, e pela desidrogenase, com 3 publicações.

A biomassa microbiana é a fração viva e mais ativa da matéria orgânica do solo. Contém de 1% a 3% do carbono total do solo e de 3% a 5% do N total, representando uma importante fonte e dreno de nutrientes para as plantas (Schloter et al., 2003). O rápido retorno do N da biomassa microbiana (NBM) contribui no processo de mineralização e é considerado relevante para a manutenção de ecossistemas naturais (Jenkinson et al., 2004). No sul do Brasil, o NBM, juntamente com o CBM (carbono da biomassa microbiana), têm sido bastante utilizados e constituem-se em excelentes bioindicadores, capazes de detectar as diferenças

entre o SPD e o sistema de plantio convencional - SPC (Franchini et al., 2007; Pereira et al., 2007; Hungria et al., 2009; Silva et al., 2010; Babujia et al., 2010; Souza et al., 2014). Na região do Cerrado, nem sempre o CBM tem sido capaz de detectar diferenças entre o SPD e o SPC (D'Andréa et al. 2002; Souza et al. 2006; Peixoto et al., 2010; Lourente et al., 2010; Silva et al., 2010). Estudos conduzidos na região do Cerrado, envolvendo determinações de NBM, têm verificado que quanto mais conservacionista é o sistema, maior é o acúmulo de N na superfície, imobilizado na biomassa microbiana (Roscoe et al., 2000; Perez et al., 2005; Figueiredo et al., 2007). Silva et al., (2007) verificaram interações significativas entre culturas de cobertura e épocas de amostragem para o NBM, mas não reportaram diferenças entre o SPD e o SPC.

Outro atributo ligado ao ciclo do nitrogênio no solo, a urease é a enzima que catalisa a hidrólise da ureia a  $\text{CO}_2$  e  $\text{NH}_3$ , sendo encontrada em microrganismos, plantas e animais (Kandeler et al., 2011). Uma baixa atividade da urease pode resultar em produção de N-amoniacal em quantidades inferiores às exigências nutricionais das plantas (Melo et al., 2010). Por outro lado, se a atividade da urease for alta, há rápida formação de amônia, que pode ser perdida por volatilização para a atmosfera. Em áreas agrícolas, vários produtos têm sido testados como inibidores de urease visando reduzir as perdas de  $\text{NH}_3$ , entre eles, sais de metais como o Cu e o B e produtos orgânicos análogos da ureia, tais como o tiofosfato de N-(n-butil) tiofosfórico triamida – NBPT (Cantarella et al., 2008). No Brasil, maiores atividades da urease têm sido reportadas em áreas sob SPD em solos argilosos (Roscoe et al. 2000; Lanna et al. 2010; Garcia et al., 2012; Lisboa et al. 2012; Carneiro et al. 2013).

As fosfomonoesterases são as fosfatases mais estudadas nos solos, atuando na hidrólise do P orgânico com posterior liberação de ortofosfato. São classificadas como ácidas e alcalinas, de acordo com seu pH ótimo de atuação (Acosta-Martinez & Tabatabai, 2011). No solo, a predominância de atividade dessas enzimas está relacionada ao pH, sendo a fosfatase ácida predominante nos solos ácidos e a fosfatase alcalina, em solos alcalinos (Eivazi & tabatai, 1977). Os microrganismos e as plantas são responsáveis pela produção das fosfatases ácidas, enquanto as alcalinas parecem ser produzidas somente por microrganismos (Tabatabai, 1994). No Brasil, Fernandes et al. (1998) verificaram a predominância da atividade da fosfatase ácida em Latossolos Roxo e Terra Roxa Estruturada e que as condições de uso do solo influenciavam a atividade dessas enzimas.

A desidrogenase é uma oxidoreductase associada às células microbianas vivas e que atua como catalizadora das reações de oxidação de compostos orgânicos, removendo elétrons do hidrogênio (Medeiros et al., 2015). De acordo com Bastida et al. (2006), o desempenho da desidrogenase quantifica a atividade respiratória do solo associada à atividade metabólica dos microrganismos e é muito susceptível a alterações na comunidade microbiana do solo. No Brasil, Leite et al. (2010) (em um Argissolo Vermelho-Amarelo, Jatobá, Piauí); e Vinhal-Freitas et al. (2012) (em um Latossolo argiloso, Uberlândia, MG) reportaram maiores atividades da desidrogenase em áreas sob SPD, enquanto Bini et al. (2014) verificaram maiores atividades em áreas sob SPC (em um Nitossolo Vermelho eutroférico, antiga Terra Roxa Estruturada, Londrina, PR).

O ensaio de hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) indica a atividade hidrolítica do solo associada às lipases, esterases e proteases (Dick, 1994). O

diacetato de fluoresceína é um composto não-polar que se difunde facilmente pelas membranas celulares, onde é hidrolisado, liberando a fluoresceína, que pode ser quantificada por espectrometria. O diacetato de fluoresceína também pode ser hidrolisado por enzimas extracelulares (Prosser et al., 2011). Conforme reportado por Dick et al. (1994), até 1994, o uso do ensaio de FDA ainda havia sido pouco testado e, na literatura, ajustes metodológicos foram propostos por Green et al. (2006) e, mais recentemente, por Prosser et al. (2011). No Brasil, Carneiro et al. (2013) verificaram maior hidrólise de FDA em solos sob vegetação nativa de Cerrado, em estudos conduzidos em um Latossolo Vermelho e em um Neossolo Quartzarênico, em Goiás. Esses autores não observaram diferenças significativas nos níveis de hidrólise de FDA em áreas sob SPD e SPC, conforme também reportado por Green et al. (2007) (em Sete Lagoas, MG). Fernandes et al. (2011) e Leite et al. (2010) reportaram maiores níveis de hidrólise de FDA em solos sob SPD, em relação a áreas sob SPC, em estudos conduzidos em Sergipe e no Piauí, respectivamente.

Tendo em vista i) que ainda não há um consenso, no Brasil, sobre o que seria um conjunto mínimo de indicadores biológicos de qualidade de solo (Mendes et al., 2015) e, ii) a valiosa oportunidade oferecida pelos três experimentos de longa duração de manejo de adubação fosfatada, na Embrapa Cerrados, de gerar tabelas para bioindicadores, neste trabalho, é dada continuidade às pesquisas sobre interpretação de indicadores microbiológicos. O foco deste capítulo são alguns indicadores microbianos que não foram contemplados no estudo de Lopes et al. (2013), mas que têm sido utilizados nos estudos de microbiologia no Brasil: NBM e atividade das enzimas urease, fosfatase alcalina, desidrogenase e hidrólise de FDA.

O CBM também foi incluído, pois a metodologia de determinação utilizada foi a de combustão em alta temperatura, em um analisador de C orgânico, diferente da metodologia de oxidação úmida utilizada no trabalho de Lopes et al. (2013). Para a geração das tabelas de interpretação, as amostras de solo foram coletadas na fase de floração e após a colheita das culturas, usando o conceito FERTBIO (determinações microbiológicas com solo seco).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS EXPERIMENTAIS**

O estudo foi realizado, em três experimentos de longa duração, localizados na Embrapa Cerrados, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado. Os delineamentos experimentais são de blocos ao acaso com três repetições. A descrição detalhada sobre o histórico desses três experimentos de longa duração foi feita por Lopes et al. (2013). Nas safras 2012/2013 e 2014/2015, os três experimentos estavam sob o cultivo de milho. Foram utilizados os mesmos 24 tratamentos, descritos no estudo de Lopes et al. (2013) (Tabela 1). Neles, diferentes doses e formas de aplicação de superfosfato triplo possibilitaram a criação de um gradiente de fósforo extraível, o qual gerou um gradiente de diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e de milho (RAG). Devido aos diferentes aportes de biomassa da parte aérea e raízes das culturas, também foi estabelecido um gradiente de matéria orgânica do solo.

**Tabela 1** - Descrição dos 24 tratamentos selecionados dos experimentos I, II e III e valores acumulados dos diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e milho (RAG).

Trat <sup>1</sup>	Dose (kg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> )		Modo de Aplicação	Sistema de Cultivo <sup>3</sup>	RAG
	1º ano <sup>2</sup>	2º ano em diante			
<b>Experimento I</b>					
1	0	0	Lanço/Sulco	SPC/MIL	3490
2	80	0	Lanço/Sulco	SPC/MIL	7888
3	160	0	Lanço/Sulco	SPC/MIL	13916
4	240	0	Lanço/Sulco	SPC/MIL	18729
5	480	0	Lanço/Sulco	SPC/MIL	31434
6 <sup>(*)</sup>	80	80	Sulco	SPC/MIL	119928
7 <sup>(*)</sup>	240+80	80	Lanço/Sulco	SPC/MIL	125776
8 <sup>(*)</sup>	80	80	Sulco	SPD/MIL	130902
<b>Experimento II</b>					
9	0	0	Sulco	SPD/MUC	61929
10	50	50	Sulco	SPD/MUC	117344
11	100	100	Sulco	SPD/MUC	126000
12	0	0	Sulco	SPD/MIL	61743
13	50	50	Sulco	SPD/MIL	119670
14	100	100	Sulco	SPD/MIL	124631
15	0	0	Sulco	SPC/MIL	50623
16	50	50	Sulco	SPC/MIL	114620
17	100	100	Sulco	SPC/MIL	128623
<b>Experimento III</b>					
18	0	0	Sulco	SPD/MIL	5996
19	0	80	Sulco	SPD/MIL	108717
20	240	0	Lanço/Sulco	SPD/MIL	30684
21	240	80	Lanço/Sulco	SPD/MIL	112729
22	0	40	Sulco	SPD/MIL	85384
23	0	60	Sulco	SPD/MIL	97659
24 <sup>(**)</sup>	0	80	Sulco	SPD/MIL	64729

<sup>1</sup> Trat = Tratamento; <sup>2</sup> Dose de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> no primeiro ano aplicada a lanço; <sup>3</sup> Sistema de Cultivo (SPC/MIL = sistema de preparo convencional com milho como planta de cobertura; SPD/MIL = sistema de plantio direto com milho como planta de cobertura; SPD/MUC = sistema de plantio direto com mucuna como planta de cobertura); <sup>(\*)</sup> Tratamentos que não recebem mais adubação desde a safra 2011/2012. <sup>(\*\*)</sup> Tratamento em que a adubação anual de 80 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> foi iniciada na safra 2011/2012.

A amostragem de solo foi realizada, na camada de 0 a 10 cm, utilizando-se um trado holandês de 5 cm de diâmetro. Nas parcelas dos 24 tratamentos que estavam sob cultivo de milho, foram coletadas 20 sub-amostras, sendo três no centro das linhas de plantio e 17 nas entrelinhas. As sub-amostras foram homogeneizadas para a obtenção de uma amostra composta por parcela. No total, foram coletadas 72 amostras nos três experimentos (24 tratamentos com 3 repetições). As amostras compostas de cada área foram homogeneizadas e colocadas em sacos plásticos para serem transportadas ao laboratório.

Áreas adjacentes, sob vegetação nativa de Cerrado (Figura 1), foram divididas em três parcelas de 10 m x 10 m e vinte amostras de solo foram coletadas ao acaso, dando origem a uma amostra composta em cada parcela (foram coletadas amostras de quatro áreas de Cerrado próximas aos experimentos analisados).



**Figura 1** - Foto de uma das áreas de Cerrado onde foram feitas as coletas de solo sob vegetação nativa (esquerda) e furo deixado onde a coleta foi efetuada com trado-holandês com 5 cm de diâmetro (direita).



No laboratório, o solo coletado em janeiro, na fase de florescimento das culturas (Figura 2), foi separado em duas porções, uma para análises químicas e outra para avaliação de parâmetros microbiológicos. A porção de solo destinada para as análises microbiológicas foi peneirada em malha de 4 mm e acondicionada em geladeira (temperatura entre 3 e 7° C) até o momento das análises, iniciadas, no máximo, em uma semana após a amostragem. A porção de solo destinada às análises de fertilidade química de solo foi seca ao ar e peneirada em malha de 2 mm (terra fina seca ao ar - TFSA).

O solo coletado na amostragem do fim do período chuvoso (Figura 2) foi seco ao ar por 15 dias e peneirado em malha de 2 mm (pós-colheita/solo seco, utilizando o conceito FERTBIO). Nesses dois conjuntos de amostras (floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco), foram realizadas determinações de CBM e NBM e de atividade das enzimas desidrogenase, urease, fosfatase alcalina e hidrolise de FDA.



**Figura 2** – Fotos realizadas durante as coletas de solo na floração (esquerda) e pós-colheita do milho (direita).

## 2.3. ANÁLISES BIOLÓGICAS E QUÍMICAS

### 2.3.1. Carbono e Nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM)

Para a estimativa do CBM e do NBM do solo, foi utilizado o método clorofórmio-fumigação-extração (CFE), proposto por Vance et al. (1987). Para cada amostra, foram utilizadas três repetições fumigadas (F) e três repetições não-fumigadas (NF). Para as amostras coletadas na fase de floração, após a coleta no campo, o teor de umidade das amostras, contendo 20 g de solo, foi elevado a 70% da capacidade de campo, quando necessário. Para as amostras coletadas na fase de pós-colheita, após a secagem ao ar, foi feito o re-umedecimento das amostras para as determinações de CBM e NBM (70% da capacidade de campo). Após a adição de água, tanto as amostras coletadas na floração como as da pós-colheita foram pré-incubadas, no escuro e à temperatura ambiente, por um período de sete dias. A pré-incubação é recomendada para eliminar interferências relacionadas ao peneiramento, re-umedecimento e limpeza do solo (Sparling et al., 1985). No sexto dia de pré-incubação, metade das amostras foi fumigada por 48 horas em um dessecador contendo uma placa de Petri com 25 ml de clorofórmio livre de álcool. Durante este período, as amostras não-fumigadas foram mantidas à temperatura ambiente. O carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana do solo foram extraídos pela adição de 50 ml de uma solução de sulfato de potássio ( $K_2SO_4$  -  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ) às amostras de solo, que, em seguida, foram submetidas à agitação horizontal (150 rpm) por 40 minutos. Após a filtragem das amostras com o papel filtro Whatman n.º 2, foi efetuada a leitura de uma alíquota de 200  $\mu\text{l}$  em um analisador de carbono orgânico total (TOC) e nitrogênio (N) modelo Vario TOC cube Elementar (Elementar

Analysensysteme GmbH) com detector de infravermelho próximo. O CBM e o NBM foram determinados pela diferença entre o carbono e o nitrogênio extraídos das amostras de solo fumigadas e não fumigadas. Foram utilizados os fatores de correção (Kec) de 0,35 (Voroney et al., 1991) e de 0,54 (Brookes et al., 1985) para os cálculos do CBM e do NBM, respectivamente. Os resultados dessas determinações foram expressos em mg C e N kg<sup>-1</sup> de solo.

### **2.3.2. Atividade da enzima urease**

A atividade da enzima urease foi estimada de acordo com Tabatabai (1994), com base na determinação do amônio liberado quando 5 g de solo são incubados a 37° C, por duas horas, em 9 ml de uma solução tamponada (THAM 0,1 M, pH 9,0) contendo 1 ml de solução de ureia (0,2 M). Para cada amostra, utilizaram-se duas repetições analíticas mais um controle, onde a solução de ureia só foi adicionada após o período de incubação. Após esse período, foi efetuada a extração com auxílio de uma solução KCl - Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. O amônio liberado foi determinado a partir da destilação a vapor (Bremner & Keeney, 1965). Em um frasco de destilação, foram adicionados 20 ml do extrato contendo o amônio e 0,2 g de óxido de magnésio. Na saída do condensador, cerca de 25 ml foram coletados em um erlenmeyer contendo 5 ml de solução indicadora de ácido bórico. O amônio foi determinado a partir da titulação do destilado com uma solução de ácido sulfúrico (0,0025 M) até a coloração mudar de verde para um tom de rosa fraco permanente (Keeney & Nelson, 1982). Os valores de atividade foram expressos em µg de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>.

A determinação da urease foi efetuada apenas com as amostras coletadas no ano de 2013.

### **2.3.3. Atividade da enzima desidrogenase**

A atividade da enzima desidrogenase foi determinada de acordo com Casida (1964) e Frighetto (2000) baseando-se na determinação colorimétrica da redução do trifeniltetrazólio (TTC), pela ação de enzimas desidrogenase, formando trifenilformazan (TPF), um precipitado vermelho solúvel em metanol. Para isso, 20 g de solo foram misturados a 0,2 g de  $\text{CaCO}_3$  e, em seguida, foram adicionados, a 3 tubos Falcon, com capacidade para 50 ml cada, 5 g dessa mistura a cada tubo. Em seguida, foram adicionados 5 ml de uma solução TTC 1,5% a cada tubo. Para extração do TPF, após incubação a 37° C em banho-maria por 24 horas, cada tubo recebeu 10 ml de metanol. Os tubos foram agitados, com auxílio de vortex, e deixados em repouso para decantação do solo. Em seguida, o sobrenadante foi coletado, com auxílio de pipeta, e passado por filtro de papel Whatman nº 2. A extração com metanol foi feita duas vezes em cada tubo. Para cada amostra, utilizaram-se três repetições analíticas. Utilizou-se uma curva padrão preparada com as concentrações conhecidas de TPF (3, 9, 15, 21 e 27 ppm) para determinação da quantidade de TPF liberado das amostras. Os valores de atividade foram expressos em  $\text{mg TPF kg}^{-1} \text{ solo } 24 \text{ h}^{-1}$ .

#### **2.3.4. Atividade da enzima fosfatase alcalina**

A atividade da enzima fosfatase alcalina foi determinada de acordo com Tabatabai (1994), baseando-se na determinação colorimétrica do p-nitrofenol liberado por essa enzima quando o solo é incubado com uma solução tamponada de substrato específico. Amostras de solo de 1 g foram colocadas em erlenmeyers de 50 ml, em seguida, foram adicionados 4 ml de uma solução MUB (pH 11) e 1 ml de p-nitrofenil fosfato (PNF 0,05 mol L<sup>-1</sup>), exceto aos controles. Os erlenmeyers foram fechados e, após 1 hora de incubação a 37° C, foram adicionados 1 ml de CaCl<sub>2</sub> (0,5 mol L<sup>-1</sup>) e 4 ml de solução NaOH (0,5 mol L<sup>-1</sup>) a todos os frascos e 1 ml de PNF somente aos controles. Em seguida, os frascos foram agitados manualmente e, após a filtragem, a intensidade da coloração amarela foi determinada com a utilização de um espectrofotômetro. Para cada amostra, utilizaram-se duas repetições analíticas mais um controle. Utilizou-se uma curva padrão preparada com as concentrações conhecidas de p-nitrofenol (0, 10, 20, 30, 40 e 50 µg de p-nitrofenol ml<sup>-1</sup>) para determinação da quantidade de p-nitrofenol liberada das amostras. Os valores de atividade foram expressos em µg p-nitrofenol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> solo.

#### **2.3.5. Atividade enzimática total (FDA)**

A atividade enzimática total (lipases, celulasas e esterases) foi avaliada através do ensaio de hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), conforme descrito por Green et al. (2006), com as modificações propostas por Prosser et al. (2011)

(envolvendo o uso de THAM ao invés de tampão fosfato). Para isso, 1 g de solo foi adicionado a erlenmeyers de 125 ml com 50 ml de tampão THAM (0,1 M, pH 7,6) a cada amostra, inclusive aos controles. Em seguida, foram adicionados 0,5 ml de solução FDA (4,9 mM) a todas as amostras, exceto aos controles, onde foi adicionado 0,5 ml de acetona. Após 3 horas de incubação a 37° C, foram adicionados 2 ml de acetona a todos os frascos (inclusive aos controles) e 0,5 ml de solução FDA somente aos controles. Em seguida, todas as amostras foram passadas por papel filtro Whatman n° 2 e submetidas à leitura em espectrofotômetro. Para cada amostra, utilizaram-se duas repetições analíticas mais um controle. Utilizou-se uma curva padrão preparada com as concentrações conhecidas de fluoresceína (0, 0,03, 0,10, 0,30, e 0,50 mg de fluoresceína) para determinação da quantidade de fluoresceína liberada das amostras. Os valores de atividade foram expressos em mg de fluoresceína kg<sup>-1</sup> solo seco 3 h<sup>-1</sup>.

### **2.3.6. Carbono orgânico do solo (COS)**

A matéria orgânica do solo foi determinada pela oxidação via úmida com dicromato de potássio em meio sulfúrico, seguida da titulação com sulfato ferroso amoniacal (Walkley & Black, 1934) e calculada de acordo com Jackson (1970). Nesse cálculo, não foi utilizado o fator de correção para carbono total (fator de 1,3), conforme proposto por Walkley (1947), por isso, essa determinação foi denominada matéria orgânica facilmente oxidável (Jackson, 1970). O carbono orgânico do solo (COS) foi calculado dividindo-se o teor de matéria orgânica por 1,724.

## 2.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para avaliar a distribuição dos dados obtidos nas duas amostragens (floração/solo úmido, pós-colheita/solo seco) foram construídos gráficos do tipo “boxplot” contendo as médias, medianas, valores de máxima e mínima, e os primeiros e terceiros quartis.

Análises de regressão foram utilizadas para comparar as amostragens: floração/solo úmido x pós-colheita/solo seco ao ar (amostra FERTBIO). Nessas análises, o solo seco ao ar sempre foi a variável dependente. Com os dados obtidos em 2013 e 2015, modelos de regressão foram ajustados utilizando o pacote estatístico SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA). O teste estatístico não paramétrico de Wilcoxon signed-rank test foi utilizado para comparar as amostragens floração/solo úmido x pós-colheita/solo seco.

Para o conjunto de amostras floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco (FERTBIO), os dados de CBM, NBM e de atividade enzimática obtidos em 2013 e 2015, em cada um dos três experimentos de campo, foram submetidos a uma análise de variância para blocos ao acaso usando o PROC GLM do SAS. Em cada experimento, os efeitos dos tratamentos foram separados usando o Teste de Duncan ( $P = 0,05$ ). Todos os requisitos para a análise de variância foram verificados.

O efeito da variabilidade anual (2013 e 2015), nas amostragens realizadas nas fases de floração e de pós-colheita/solo seco (FERTBIO), foi determinado por meio de uma análise de componentes de variância. As fontes de variação foram: tratamentos, anos e a interação ano x tratamento. O objetivo dessa análise foi determinar, em cada amostragem (floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco), as

fontes de variação que mais influenciaram a variância dos parâmetros avaliados (CBM, NBM, urease, desidrogenase, fosfatase alcalina e FDA). A urease não foi incluída nessa análise porque foi avaliada apenas em 2013.

As relações entre o COS e o rendimento relativo acumulado de grãos (RRA), e entre esses e os atributos microbiológicos (CBM, NBM, urease, desidrogenase, fosfatase alcalina e FDA) foram determinadas por meio de análises de regressão. As equações e os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), bem como a significância dos parâmetros dos modelos, foram obtidos com auxílio do programa SAS versão 9.1. O RRA é o rendimento de grãos acumulado relativizado em função da maior produção acumulada obtida em cada experimento. A opção de uso do RRA deve-se ao fato de que os três experimentos possuem diferentes rotações (sucessões) de culturas e tempos de estabelecimento (22 anos – Experimento I; 17 anos – Experimentos II e III), permitindo reunir, em uma única base de dados, os resultados obtidos nessas diferentes condições (Danke & Olson, 1990).

## 2.5. INTERPRETAÇÃO DOS ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS

Para realizar a interpretação dos valores dos bioindicadores, foram utilizadas as duas estratégias propostas por Lopes et al. (2013). A primeira é baseada nas relações entre os atributos microbiológicos com o RRA. A partir dos modelos de melhores ajustes para cada variável, foi assumido como nível crítico (NC) o valor do bioindicador capaz de propiciar 80% do RRA máximo, considerando este valor como a produção de máxima eficiência econômica. Para facilitar a interpretação dos resultados, foram definidas três classes (baixa, média, adequada) de acordo com os



respectivos valores de RRA:  $\leq 40\%$  baixo, 41-80% médio e  $> 81\%$  adequado. Embora esta divisão em classes seja subjetiva, nos estudos para diagnóstico de fertilidade de solo, elas estão associadas a uma probabilidade de resposta econômica decrescente à fertilização.

A segunda estratégia para a interpretação dos bioindicadores é baseada nos valores de COS. Com base na relação entre o RRA e o COS, gera-se inicialmente um nível crítico (NC) para o COS (equivalente a 80% do RRA) e a seguir, definem-se as classes de interpretação para o COS em função do RRA ( $\leq 40\%$  baixo, 61-80% médio,  $> 81\%$  adequado). A partir das classes obtidas para os teores de COS, foram obtidos valores correspondentes para os bioindicadores com base nas relações entre estes e o COS.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. CBM, NBM, DESIDROGENASE, FOSFATASE ALCALINA, UREASE E FDA EM SOLOS CULTIVADOS E ÁREAS DE CERRADO**

Análises de ranqueamento (Tabelas 2, 3 e 4) foram conduzidas, para cada um dos três experimentos, nos dois anos do estudo (2013 e 2015) e em cada época de avaliação (floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco). A diferenciação entre os tratamentos foi mais evidente nos experimentos 1 e 3, pois estes concentram tratamentos com grande variação no rendimento de grãos (3.490 a 130.902 kg ha<sup>-1</sup>) e COS (11,45 a 19,31 g kg<sup>-1</sup>). De maneira geral, nestes dois experimentos, os tratamentos com maiores RRA e COS foram os que apresentaram maiores níveis de

CBM e de atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina e urease. Nestes dois experimentos, onde co-existem extremos de produtividade, nem sempre o NBM e o ensaio de hidrólise da FDA foram capazes de diferenciar os tratamentos, independente do ano e da época de amostragem.

No experimento 2, onde as amplitudes do rendimento de grãos (50.623 a 128.623 kg) e de COS (15,8 a 17,86 g kg<sup>-1</sup>) dos tratamentos são mais estreitas, os tratamentos sob SPD Milheto, adubados anualmente com 50 e 100 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, apresentaram os maiores níveis de CBM e atividade enzimática, tanto na floração/solo úmido como na pós-colheita/solo seco. Em contrapartida, os tratamentos sob SPC milheto apresentaram os menores níveis de CBM (todas as épocas) e NBM (apenas floração solo úmido/2015), bem como os menores níveis de desidrogenase (com exceção pós-colheita solo seco de 2013) e urease (pós-colheita solo seco). O ensaio de hidrólise de FDA não diferenciou os tratamentos desse experimento em nenhuma das avaliações realizadas.

No Brasil, vários trabalhos na literatura reportam aumentos no carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (Perez et al. 2005; Franchini et al., 2007; Figueiredo et al. 2007; Pereira et al., 2007; Hungria et al., 2009; Silva et al., 2010), nas atividades da desidrogenase (Vinhal-Freitas et al. 2012; Bini et al. 2014), urease (Roscoe et al. 2000; Lanna et al. 2010; Lisboa et al. 2012) e fosfatase alcalina (Vinhal-Freitas et al., 2012) em áreas sob SPD. Esses aumentos estão relacionados à preservação das relações construídas no solo com o tempo de cultivo nesse sistema, que decorrem da minimização do grau e da intensidade de revolvimento do solo, do manejo da palhada e da diversidade biológica. Com relação ao ensaio de hidrólise de FDA, Green et al. (2007), utilizando metodologia semelhante à do

presente estudo, também verificaram que esse ensaio não diferenciou tratamentos sob SPD e SPC. A ausência de diferenças entre o SPD e o SPC, com o uso do ensaio de FDA, também foi reportada por Carneiro et al. (2013), que usaram a metodologia proposta por Schnurer & Roswall (1982).

Com base nos dados da amostragem realizada na floração/solo úmido, onde as diferenças entre os tratamentos são potencializadas, e tomando como referência os tratamentos de alta produtividade, com RRA superior a 70.000 kg ha<sup>-1</sup> (tratamentos 6, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 19, 21, 22 e 23), houve, em relação às áreas nativas, sob vegetação de Cerrado, reduções médias nos teores de CBM (46%), NBM (62%) e nas atividades da desidrogenase (40%), urease (68%), hidrólise da FDA (28%) e fosfatase alcalina (10%). Essas reduções também foram verificadas na amostragem pós-colheita/solo seco: CBM (53%), NBM (72%), atividade da desidrogenase (41%), urease (48%), hidrólise da FDA (18%) e fosfatase alcalina (40%).

Vários trabalhos na literatura relatam reduções na biomassa microbiana e na atividade de algumas enzimas do solo após a conversão de solos sob vegetação nativa de Cerrado para agricultura (Maciel et al., 1996; Mendes et al., 1999; Matsuoka et al, 2003; Mercante et al.; 2000; Perez et al. 2005; Green et al.; 2007; Frazão et al., 2010; Peixoto et al., 2010; Silva et al.; 2010; Garcia & Nahas, 2012; Carneiro et al., 2013). Essa redução está associada à ruptura do equilíbrio microbiológico no solo, causada pela remoção da vegetação nativa, revolvimento físico e mudanças no ambiente químico, após a calagem e adubação. Além da redução nos teores de biomassa microbiana, as mudanças provocadas no ambiente solo, em função da qualidade e da quantidade dos resíduos vegetais retornados ao

solo, também explicam as reduções nos níveis de atividade das enzimas avaliadas nesse estudo (desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA). Com relação aos dados de CBM, cabe destacar que, em algumas condições específicas, exceções têm sido reportadas, onde áreas sob vegetação nativa apresentam CBM inferior ao de áreas cultivadas sob SPD (ex: no Piauí: Matias et al., 2009; Leite et al., 2010; e em solos arenosos, Carneiro et al., 2009).

Nesses experimentos de longa duração, verifica-se que, nos tratamentos de alta produtividade, as reduções expressivas, observadas principalmente nos teores de biomassa microbiana e nos níveis de atividade das enzimas desidrogenase e urease, persistiram mesmo após 21 anos de estabelecimento do SPD (conforme verificado no tratamento 8, do experimento 1). A permanência dessas reduções ao longo do tempo reforça a idéia de que os teores/níveis encontrados em ambientes em equilíbrio, como as áreas nativas de Cerrado, não são alvos realísticos para áreas agrícolas (Mendes et al., 2015). Por essa razão, o uso de áreas sob vegetação nativa como critério de referência de qualidade do solo tem sido questionado (Araújo et al., 2007; Lopes et al., 2013), reforçando a importância do uso de tabelas de interpretação geradas a partir de áreas agrícolas.

**Tabela 2** - Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana ( $\text{mg kg}^{-1}$  solo), em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0 - 10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015 nas fases floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco.

Tratamentos	Floração/solo úmido				Pós-colheita/solo seco			
	CBM		NBM		CBM		NBM	
	2013	2015	2013	2015	2013	2015	2013	2015
1	109c	211 cd	7,1	23,2bcd	51 c	127c	nd	8,1
2	122c	188 d	7,1	14,8d	76 bc	147c	nd	22,2
3	162c	240 cd	12,8	22,0cd	106 b	170c	nd	13,5
4	149c	224 cd	7,8	29,1bc	91 bc	157c	nd	14,4
5	154c	258 c	9,7	31,4b	102 b	173c	nd	9,9
6	381a	358 b	20,4	38,1b	228 a	311b	nd	16,2
7	297b	368 b	32,4	37,4bc	234 a	279b	nd	25,2
8	389a	559 a	23,5	62,5a	256 a	506a	nd	22,0
CV(%)	17	11	59ns	25	16	17		68ns
9	308de	414ab	18,7	45,5bcd	205d	284cde	3,2b	26,3
10	328cd	436ab	25,4	49,0bcd	241cd	346bcd	3,8b	22,1
11	340cd	467ab	26,1	44,7bcd	236cd	365abc	6,1b	26,3
12	370bc	476ab	23,5	54,4abc	278bc	372abc	10,4b	30,1
13	406b	529a	30,0	60,7ab	294ab	422ab	13,0b	20,2
14	469a	563a	32,6	70,0a	332a	449a	11,6b	19,5
15	237f	310b	20,7	30,2d	211d	262de	8,8b	23,8
16	280e	304b	24,7	33,5cd	197d	249e	8,7b	21,6
17	308de	451ab	23,8	56,6ab	334a	298cde	25,4a	28,0
CV (%)	7	20	22ns	24	9	15	65	38 ns
18	144d	246b	12,2	17,7b	138d	193b	5,2	11,2d
19	377ab	450a	30,2	48,5a	291a	385a	11,4	24,7bcd
20	218cd	308b	19,1	20,2b	215c	223b	11,3	19,0d
21	429a	516a	30,8	53,7a	297a	441a	15,6	24,3cd
22	384ab	512a	29,6	50,4a	288ab	365a	16,1	37,0a
23	457a	509a	34,6	54,3a	246bc	431a	12,7	35,8ab
24	304bc	435a	36,6	46,3a	256abc	417a	11,4	33,2abc
CV(%)	15,4	13,3	44ns	19	9	16	28ns	20
Cerrado 1	642	674	59,8	68,9	388	675	25,4	61,5
Cerrado 2	618	683	47,8	72,8	518	739	50,1	99,3
Cerrado 3	848	853	56,0	108,6	625	885	39,5	105,3
Cerrado 4	795	855	55,7	105,9	639	922	35,4	125,3
Média Cerrado	726	766	54,8	89,0	543	805	37,6	97,9

Valores seguidos pelas mesmas letras, na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ). nd =Valores negativos de NBM.

**Tabela 3** - Atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e urease em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015, na fase de floração/solo úmido.

Tratamentos	Desidrogenase		Fosfatase Alcalina		FDA		Urease
	2013	2015	2013	2015	2013	2015	2013
1	16c	11c	102c	129d	229	150b	2d
2	20c	13c	103c	166cd	244	133b	4bcd
3	18c	13c	110c	162cd	244	85b	4bcd
4	25c	15c	91c	198c	307	124b	3,6cd
5	25c	22c	118c	134d	295	162b	2,6d
6	75b	55b	257a	325b	469	151b	7,1abc
7	69b	49b	188b	299b	368	211ab	7,7ab
8	105a	77a	245a	428a	302	291a	10,3a
CV (%)	20	37	18	15	28 ns	40	37
9	84b	60ab	207ef	184d	293	179	7,4c
10	90ab	61ab	246de	270bcd	282	251	9,2bc
11	95ab	62ab	214ef	301abc	323	195	7,7c
12	90ab	67a	298bc	354ab	314	246	11,5bc
13	96ab	62ab	365a	373a	382	203	13,4ab
14	110a	62ab	335ab	319abc	413	297	17,8a
15	50c	31c	180f	227cd	354	209	9,6bc
16	58c	36c	309bc	263bcd	301	186	10,0bc
17	62c	44bc	271cd	236cd	355	196	9,0bc
CV(%)	14	18	10	18,5	20 ns	39ns	26
18	32d	22d	76c	82c	245c	274	4d
19	114b	66b	232b	245a	439ab	326	16ab
20	61c	38c	106c	160bc	341b	263	8c
21	131ab	69b	302a	205a	458a	346	16ab
22	127ab	79ab	211b	214ab	405ab	347	17a
23	145a	84a	291a	268a	395ab	381	14ab
24	78c	66b	218b	223a	405ab	357	13b
CV(%)	16	13	12	16	14	27 ns	13
Cerrado 1	147	97	176	182	503	357	32
Cerrado 2	144	97	224	307	488	348	35
Cerrado 3	164	121	331	487	474	330	45
Cerrado 4	179	122	368	422	511	489	38
Média Cerrado	159	109	275	350	494	381	38

Desidrogenase = mg de TPF kg<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>, fosfatase alcalina= µg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>, FDA = mg de fluoresceína kg<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup> e urease = µg de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>. Valores seguidos pelas mesmas letras, na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Duncan (p < 0,05).

**Tabela 4** - Atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e urease em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015, na fase de pós-colheita/solo seco.

Tratamentos	Desidrogenase		Fosfatase Alcalina		FDA		Urease
	2013	2015	2013	2015	2013	2015	2013
1	13b	6c	47cd	53d	204	151b	5,2b
2	15b	7c	51bcd	63cd	180	218ab	3,8b
3	17b	7c	50bcd	65cd	199	208b	4,7b
4	18b	8c	59bcd	74cd	161	241ab	4,7b
5	20b	7c	42d	55d	167	229ab	4,6b
6	39a	37b	70ab	97bc	179	297a	9,7a
7	37a	29b	68bc	124b	214	302a	9,4a
8	42a	54a	89a	208a	234	283a	11,2a
CV(%)	28	34	21	19	22ns	21	26
9	48	37bc	55c	83bc	240	289	12,6bc
10	41	37bc	68abc	139a	250	238	11,1cd
11	40	39bc	65bc	110ab	200	263	13,5bc
12	39	36bc	72abc	126ab	220	256	18,2a
13	44	51ab	85a	119ab	217	227	16,2ab
14	44	57a	83ab	121ab	218	262	16,2ab
15	34	20d	56c	59c	235	233	8,3d
16	36	31cd	80ab	109ab	183	269	7,7d
17	42	41bc	68abc	80bc	226	286	7,2d
CV(%)	12ns	21	15	25	16ns	10ns	17
18	25b	9b	44	48c	236	223d	8b
19	56a	59a	59	101a	214	278cd	16a
20	42a	13b	50	59cd	256	249cd	11ab
21	45a	58a	61	115a	210	263cd	15a
22	45a	58a	61	89ab	250	373ab	16a
23	49a	62a	62	126a	249	313bc	15a
24	48a	57a	62	110a	232	377a	16a
CV(%)	20	15 ns	16 ns	23	9 ns	11,4	18,5
Cerrado 1	61	74	83	122	240	337	22
Cerrado 2	66	92	94	175	268	314	22
Cerrado 3	69	103	119	243	270	364	26
Cerrado 4	64	91	171	262	308	367	27
Médias Cerrado	65	90	117	201	272	346	24

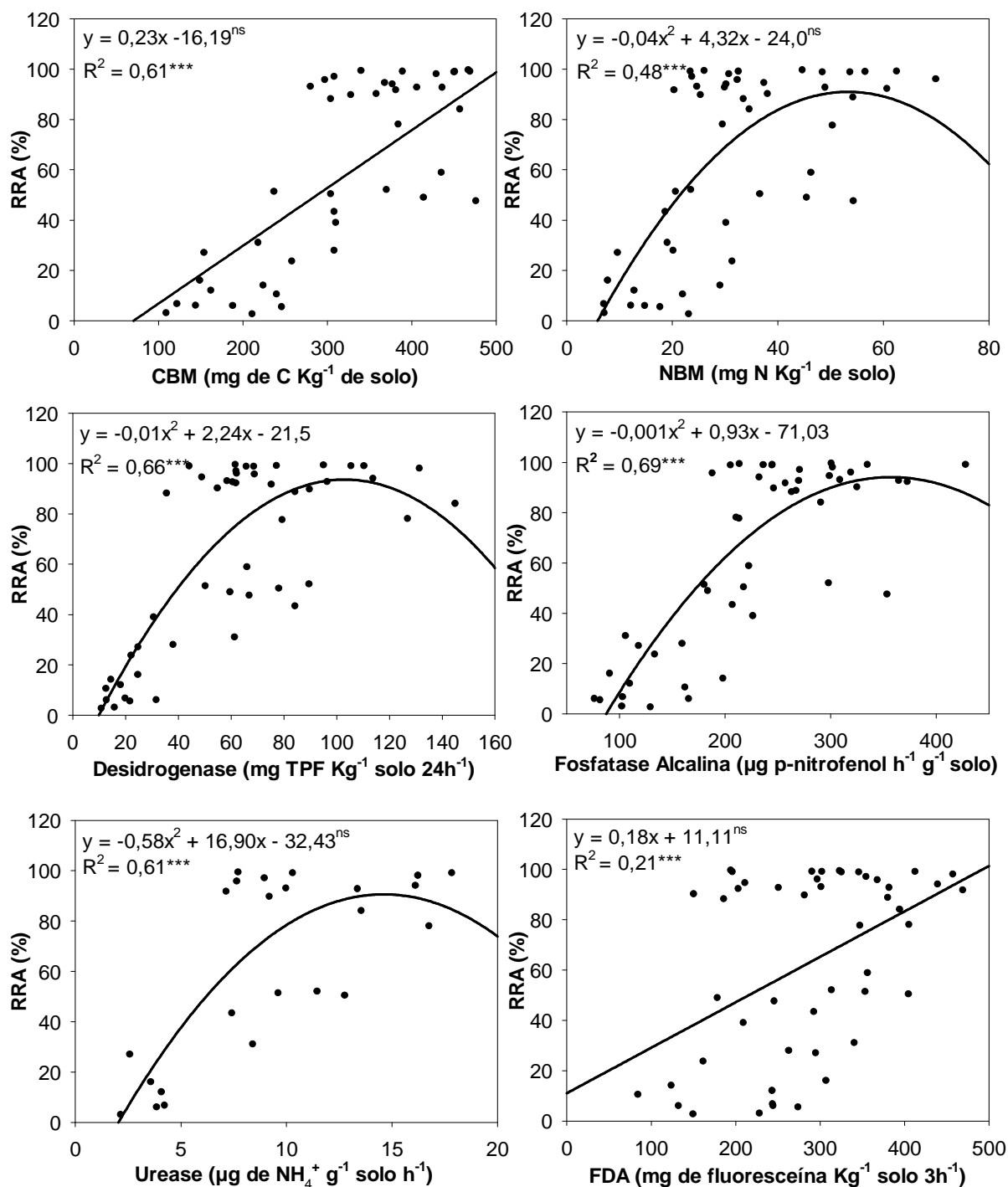
Desidrogenase = mg de TPF kg<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>, fosfatase alcalina= µg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>, FDA = mg de fluoresceína kg<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup> e urease = µg de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>. Valores seguidos pelas mesmas letras, na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Duncan (p < 0,05).

### 3.2. TABELAS DE INTERPRETAÇÃO: FLORAÇÃO/SOLO ÚMIDO E PÓS-COLHEITA/SOLO SECO

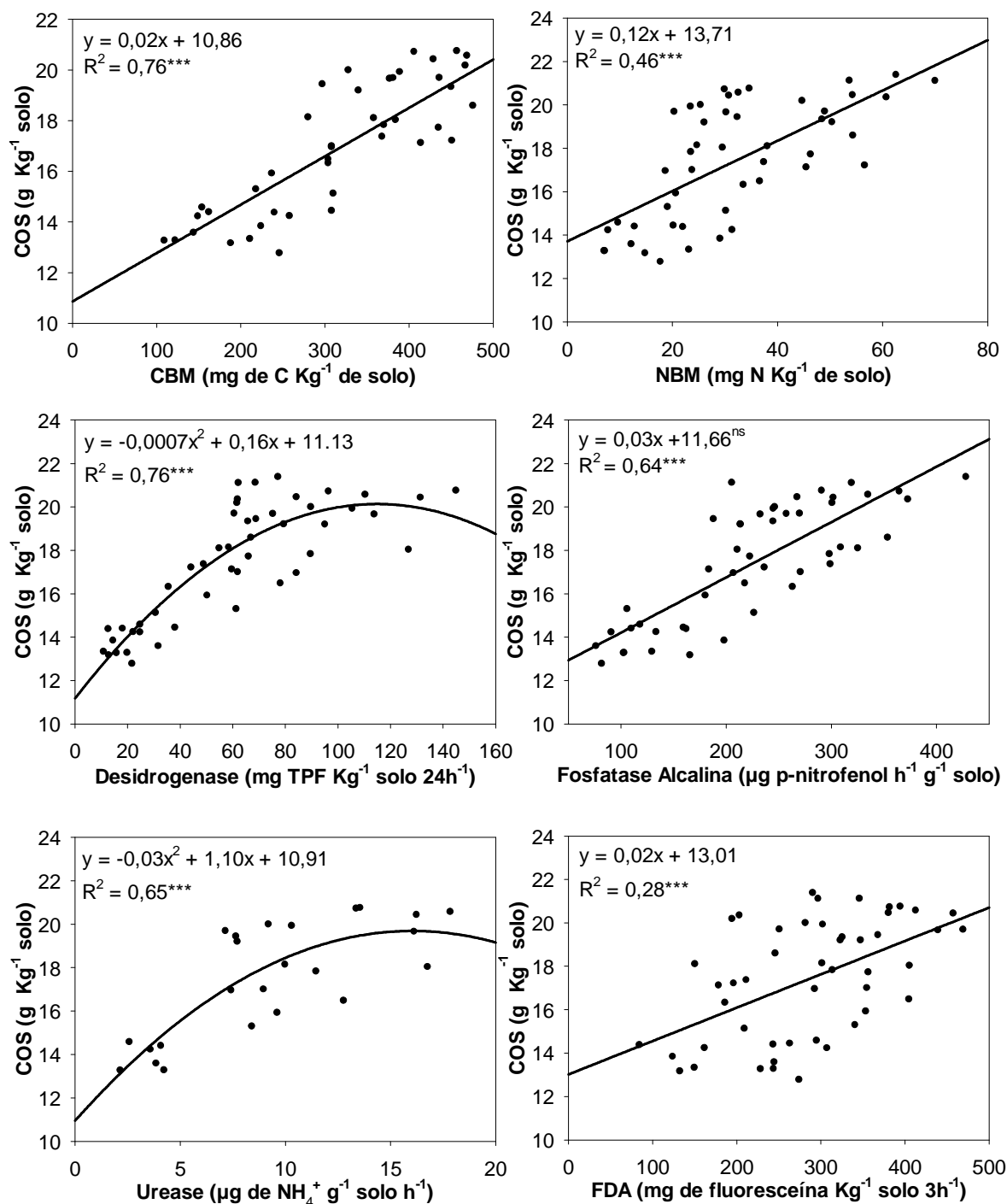
A estratégia proposta por Lopes et al., (2013) foi utilizada neste trabalho para gerar tabelas de interpretação para o CBM (usando o analisador de C orgânico), NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA. Para cada época de amostragem (floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco), foram determinadas as relações desses bioindicadores com o RRA (Figuras 3 e 5) e com o COS (Figuras 4 e 6).

Na amostragem realizada na floração/solo úmido (Figuras 3 e 4), modelos quadráticos foram ajustados para as relações da desidrogenase e urease com o RRA e com o COS. Para as relações do COS e do RRA com o CBM e o ensaio de FDA, foram ajustados modelos lineares. Modelos quadráticos foram ajustados para as relações do NBM e da fosfatase alcalina com o RRA, enquanto que para as relações com o COS, os ajustes foram lineares. Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) variaram entre 0,61 e 0,76 para o CBM, urease, desidrogenase e fosfatase alcalina (Figuras 3 e 4). Embora significativos, valores baixos de  $R^2$  foram observados para o NBM (0,48 e 0,46 para as relações com o RRA e o COS, respectivamente) e para o ensaio de FDA (0,21 e 0,28, para as relações com o RRA e o COS, respectivamente) evidenciando que o RRA e o COS não foram fatores determinantes para as variações desses atributos.





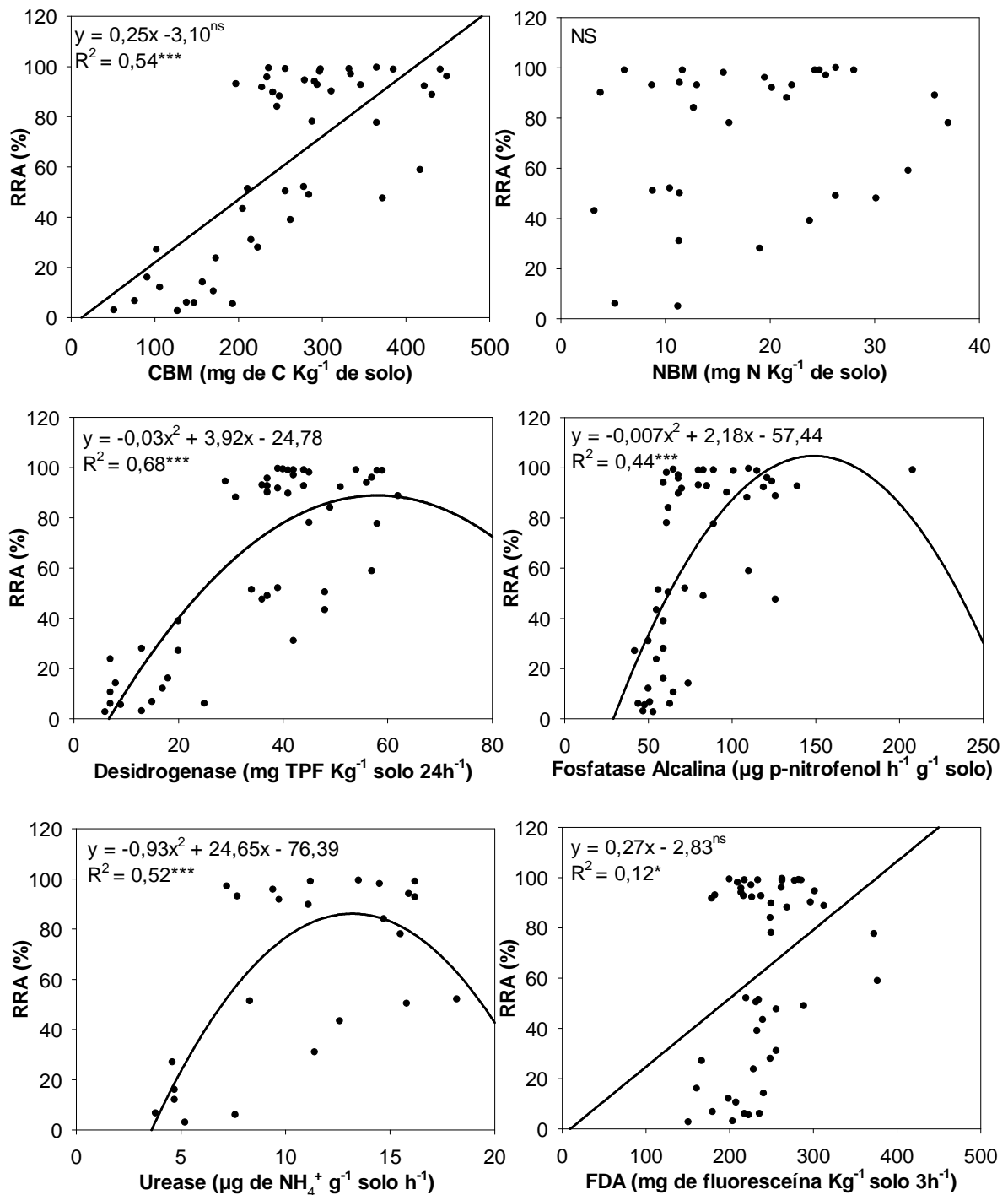
**Figura 3** - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o RRA determinadas na fase floração/solo úmido. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Ns = não significativo.



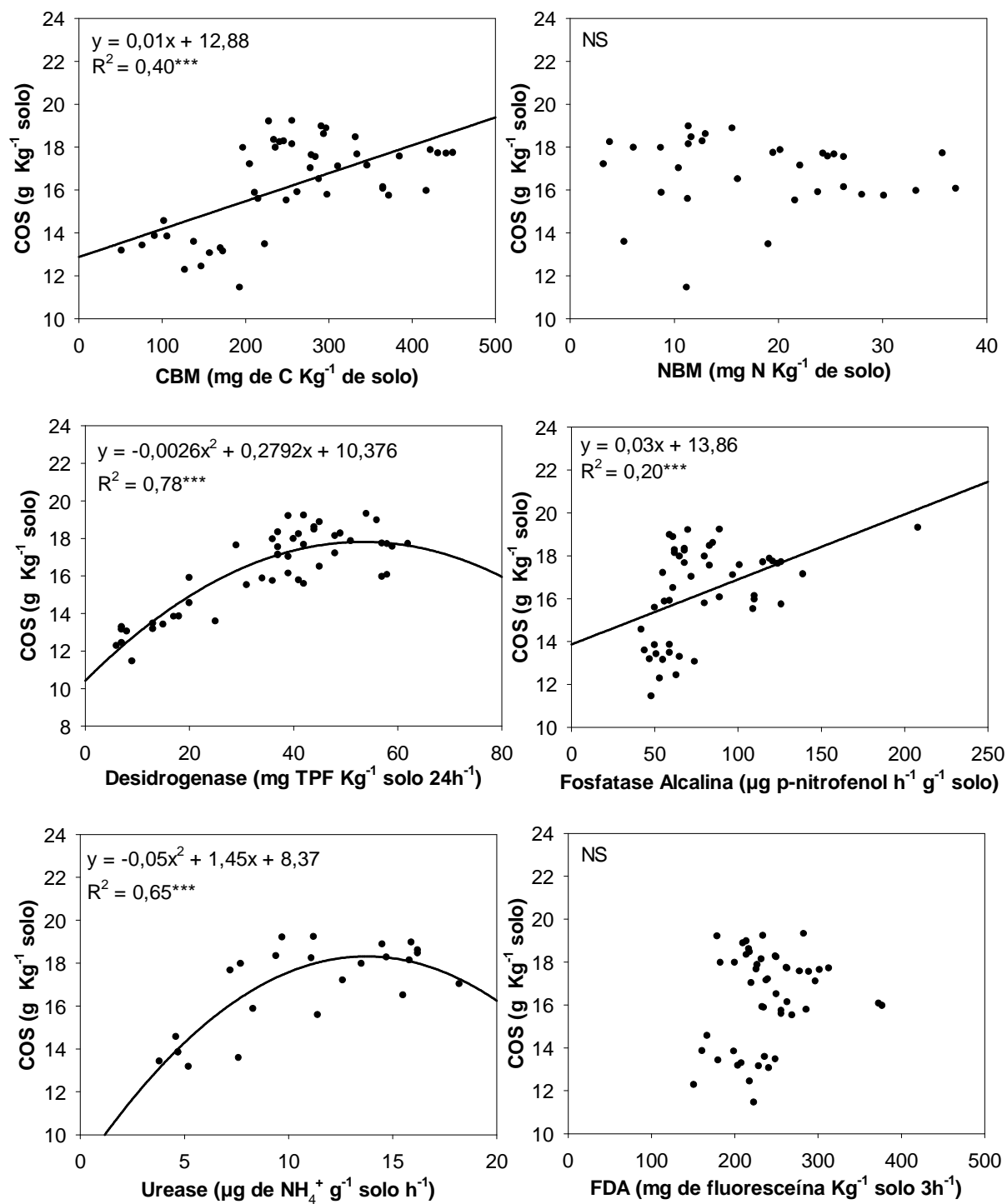
**Figura 4** - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o COS determinadas na fase floração/solo úmido. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Ns = não significativo.

Nas amostragens realizadas na fase de pós-colheita/solo seco, com exceção da desidrogenase, para todos os demais parâmetros avaliados, houve uma piora no ajuste dos modelos, com redução no coeficiente  $R^2$ , em relação à fase de florescimento/solo úmido. Parâmetros como o NBM e o FDA, que apresentaram valores baixos de  $R^2$  na floração, não apresentaram nenhuma relação com o RRA e com COS, na pós-colheita/solo seco (NBM com base nos dados dos experimentos 2 e 3). O CBM novamente apresentou relações lineares significativas com o RRA ( $R^2 = 0,54$ ) e o COS ( $R^2 = 0,40$ ). Modelos quadráticos foram ajustados para as relações da desidrogenase e da urease com o RRA e com o COS, com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) variando entre 0,52 e 0,78 (Figuras 5 e 6). Para as relações da fosfatase alcalina com o RRA, foi ajustado um modelo quadrático ( $R^2 = 0,44$ ), enquanto que, para as relações com o COS ( $R^2 = 0,20$ ), o ajuste foi linear.

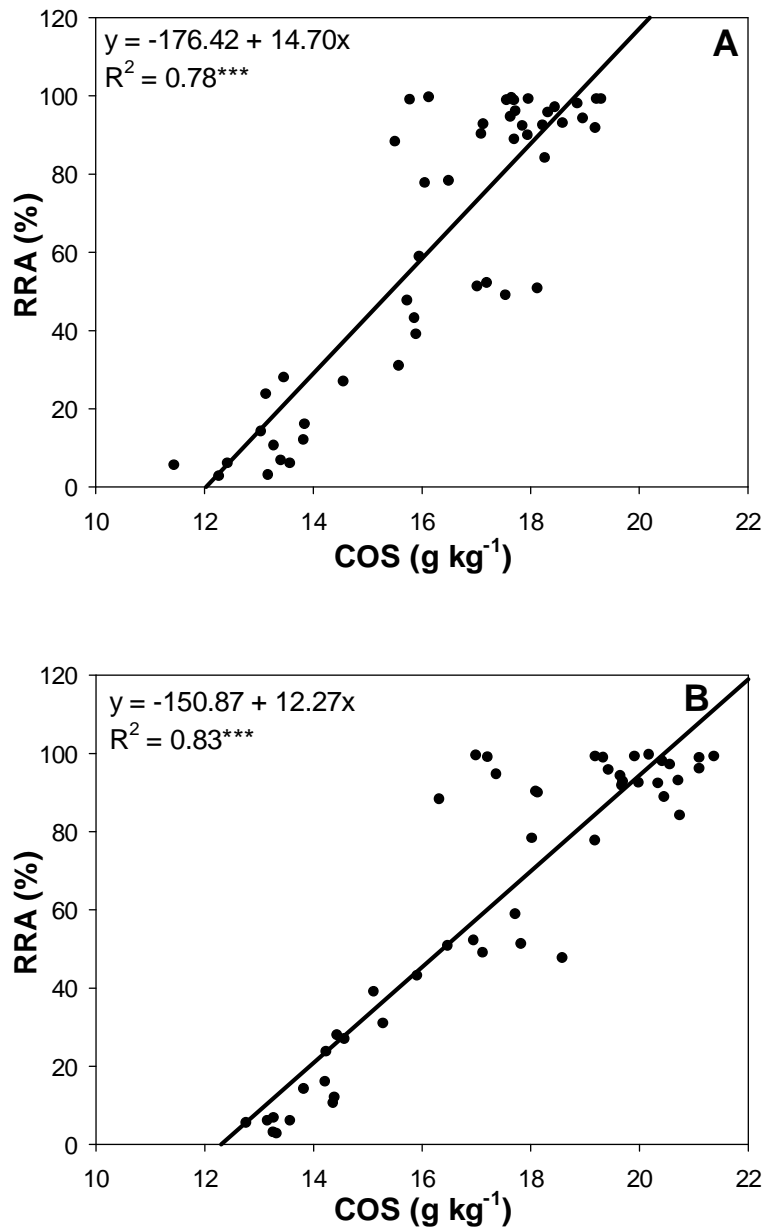
A Figura 7 mostra claramente que, nestes três experimentos de longa duração, o aumento no rendimento de grãos, com conseqüente aumento na quantidade de resíduos retornados ao solo pelas culturas - em resposta a diferentes doses e formas de aplicação do fertilizante fosfatado super triplo - favoreceu, ao longo do tempo, a formação de um gradiente de COS. No presente estudo (Figuras 3 a 6), esse gradiente de COS, além do CBM (conforme também observado por Lopes et al., 2013), influenciou a atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina e urease. Foram exceções os dados de NBM e de hidrólise de FDA. Na amostragem floração/solo úmido, esses dois parâmetros não apresentaram relações robustas com o RRA e com o COS (Figuras 3 e 4). Na amostragem pós-colheita/solo seco, a ausência de relações do NBM e do FDA com o RRA e com o COS impossibilitou a delimitação de classes de suficiência.



**Figura 5** - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o RRA determinadas na fase pós-colheita/solo seco. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Ns = não significativo.



**Figura 6** - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o COS determinadas na fase pós-colheita/solo seco. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Ns = não significativo.



**Figura 7** - Relações entre o rendimento relativo acumulado de grãos (RRA) e o carbono orgânico do solo (COS), determinadas com base nas amostragens pós-colheita/solo seco (A) e floração/solo úmido (B) nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ .

Na literatura, os estudos que mostram relações entre os parâmetros microbiológicos, a matéria orgânica e o rendimento de grãos das culturas são variáveis, mostrando tendências de relações positivas (Dick et al., 1988; Nayyar et al., 2009; Hungria et al. 2009; Lopes et al. 2013; Lupwayi et al., 2015) e também ausência de relações (Baldiane et al., 2001). Essas observações também se aplicam ao caso das relações do COS com o NBM ou com a hidrólise de FDA que, no presente estudo, foram os únicos parâmetros que não apresentaram relações robustas com o COS e o RRA. Nos estudos de Tokuda & Hayatsu (2002), Santos et al. (2004) e Bowles et al. (2014), o NBM não foi significativamente relacionado ao COS. Por outro lado, Roscoe et al. (2000); Pereira et al. (2007) e Gajda et al. (2013) verificaram relações significativas entre o COS e o NBM. Grande parte dessas respostas contraditórias pode ser atribuída às particularidades de cada estudo, tais como condições edafoclimáticas e tratamentos avaliados. Com relação ao ensaio de hidrólise de FDA, Green et al. (2007) e Carneiro et al. (2013) não observaram relações entre a hidrólise do FDA com o COS, enquanto Fernandes et al. (2011) e Gajda et al. (2013) verificaram relações significativas entre a hidrólise de FDA e o COS. Cabe destacar que, no estudo de Green et al. (2007), foi utilizada uma metodologia semelhante a do presente estudo e, nos demais estudos, metodologias distintas. Dessa forma, conforme já mencionado, além dos aspectos relacionados às particularidades de cada estudo, no caso do ensaio da hidrólise da FDA, também não se pode excluir a possibilidade de que outros métodos de determinação de hidrólise do FDA pudessem ter detectado essas relações.

Como o CBM e a atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina e urease foram relacionados com o RRA e com o COS, por meio das análises de

regressão apresentadas nas Figuras 3 a 6, realizou-se a delimitação de classes de suficiência para cada um desses parâmetros em função do RRA e do COS. Foram utilizados os critérios propostos por Lopes et al. (2013):  $\leq 40\%$ : baixo; de 41% a 80%: moderado e  $> 80\%$ : adequado. Assim, foram construídas tabelas de interpretação para o CBM, desidrogenase, fosfatase alcalina e urease utilizando amostras de solo coletadas tanto na fase de floração/solo úmido (Tabela 5), como na fase de pós-colheita/solo seco (Tabela 6), usando o conceito de amostra FERTBIO.

Para a interpretação desses bioindicadores em função do COS, inicialmente foram definidos níveis críticos de COS, com base nas relações destes teores com o RRA (Figura 7). Os níveis críticos de COS, equivalentes a 80% do RRA, para as amostras FERTBIO e floração/solo úmido foram  $17,4 \text{ g kg}^{-1}$  e  $18,8 \text{ g kg}^{-1}$  solo, respectivamente. Os níveis críticos de COS equivalentes a 40% do RRA, para as amostras FERTBIO e floração/solo úmido foram  $14,7 \text{ g kg}^{-1}$  e  $15,6 \text{ g kg}^{-1}$  solo, respectivamente. Com base nos valores desses níveis críticos de COS, foram obtidos os valores correspondentes para os atributos microbiológicos para as amostras floração/solo úmido (Figura 4) e pós-colheita solo seco (Figura 6).

Em relação às tabelas geradas com base nos dados obtidos na floração/solo úmido (Tabela 5), verifica-se que, nas tabelas de interpretação com base no conceito FERTBIO (Tabela 6), apenas os níveis críticos da urease permaneceram praticamente inalterados. Embora os NC's do CBM tenham mudado entre as duas amostragens, a amplitude de variação (diferença entre o maior e menor valor) apresentou apenas 8% de oscilação nos valores gerados a partir do RRA. Houve uma redução significativa na amplitude das classes de interpretação da



desidrogenase e da fosfatase alcalina. Na tabela FERTBIO, levando-se em consideração o RRA, os NC's baixo e adequado para a desidrogenase foram 20 e 37 mg TPF kg<sup>-1</sup> solo 24 h<sup>-1</sup>, respectivamente, o que dá uma amplitude de apenas 17 unidades entre esses dois extremos. Para a fosfatase alcalina, essa amplitude foi de 34 unidades. Em contrapartida, nas amostras floração/solo úmido, as amplitudes entre as classes de interpretação baixo e adequado foram de 31 e 69 unidades para as enzimas desidrogenase e fosfatase alcalina, respectivamente, ou seja, 1,8, e 2,03 vezes maiores que as amplitudes das amostras FERTBIO. Esse estreitamento na amplitude das classes de interpretação baixo/adequado pode, em sua grande parte, ser atribuído ao efeito da secagem do solo ao ar, conforme também observado por Lopes et al. (2015) e que será discutido a seguir.

**Tabela 5** - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de matéria orgânica do solo, com amostras coletadas na floração/solo úmido.

Enzimas <sup>(1)</sup>	Níveis de atividade enzimática no solo		
	Baixo	Moderado	Adequado
Com base no rendimento relativo acumulado			
CBM	≤ 244	245 a 417	> 418
Urease	≤ 5	6 a 9	> 10
Desidrogenase	≤ 32	33 a 62	> 63
Fosfatase alcalina	≤ 140	141 a 208	> 209
Com base no teor do Carbono Orgânico do Solo			
CBM	≤ 237	238 a 396	> 397
Urease	≤ 5	6 a 9	> 10
Desidrogenase	≤ 33	34 a 67	> 68
Fosfatase alcalina	≤ 131	132 a 237	> 238

<sup>(1)</sup> Os valores de cada bioindicador são expressos em: CBM – mg C kg<sup>-1</sup> solo; Urease - μg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>; Desidrogenase – mg TPF kg<sup>-1</sup> solo 24 h<sup>-1</sup>; Fosfatase Alcalina - μg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>; FDA – mg fluoresceína kg<sup>-1</sup> solo 3 h<sup>-1</sup>.

**Tabela 6** - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de matéria orgânica do solo, com amostras coletadas na pós-colheita/solo seco.

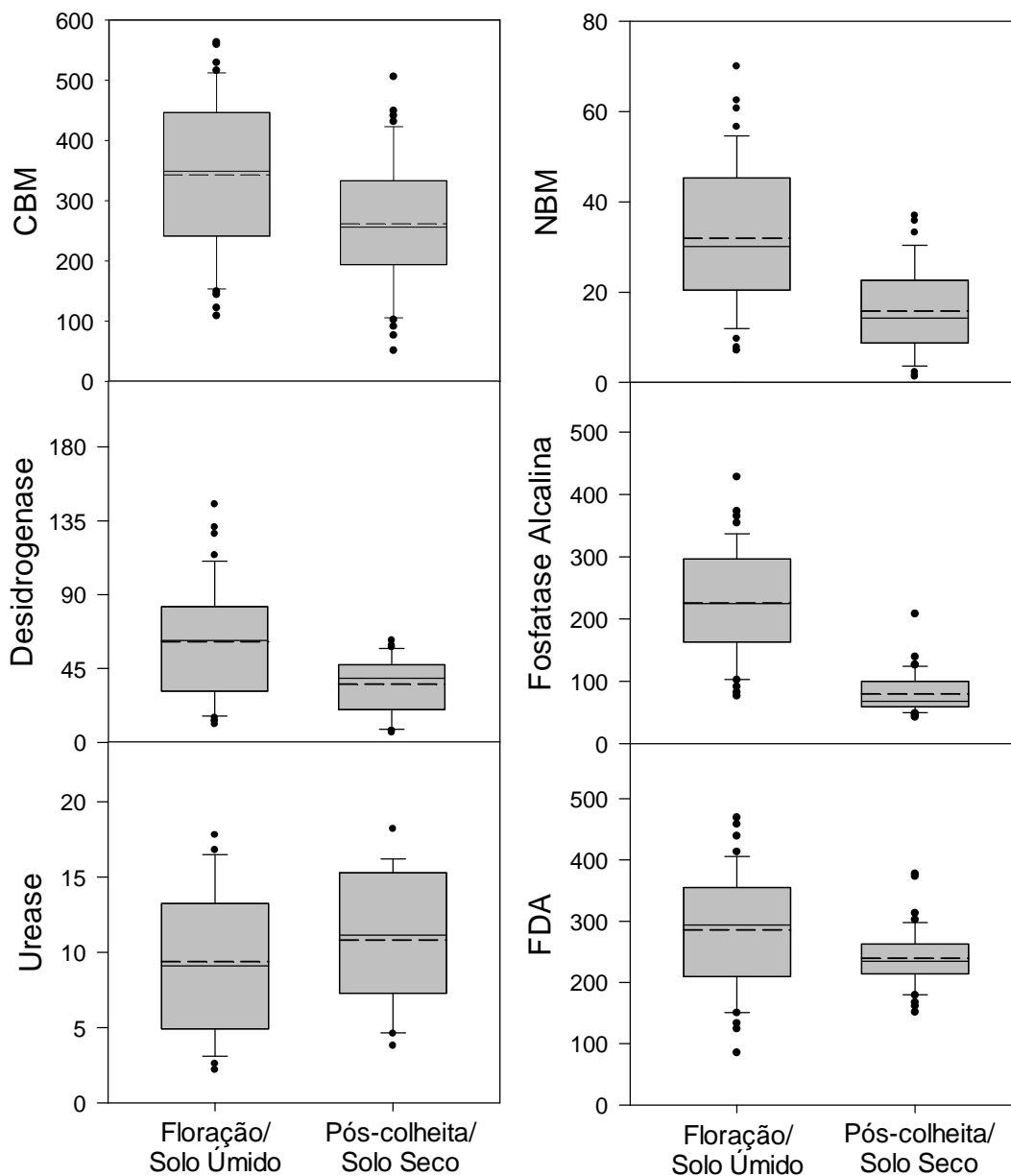
Enzimas <sup>(1)</sup>	Níveis de atividade enzimática no solo		
	Baixo	Moderado	Adequado
Com base no rendimento relativo acumulado			
CBM	≤ 172	173 a 331	> 332
Urease	≤ 6	7 a 9	> 10
Desidrogenase	≤ 20	21 a 36	> 37
Fosfatase alcalina	≤ 54	55 a 87	> 88
Com base no teor do Carbono Orgânico do Solo			
CBM	≤ 182	183 a 451	> 452
Urease	≤ 5	6 a 8	> 9
Desidrogenase	≤ 18	19 a 39	> 40
Fosfatase alcalina	≤ 28	29 a 117	> 118

<sup>(1)</sup> Os valores de cada bioindicador são expressos em: CBM – mg C kg<sup>-1</sup> solo; Urease - µg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>; Desidrogenase – mg TPF kg<sup>-1</sup> solo 24 h<sup>-1</sup>; Fosfatase Alcalina - µg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>; FDA – mg fluoresceína kg<sup>-1</sup> solo 3 h<sup>-1</sup>.

### 3.3. ÉPOCA DE COLETA E PRÉ-TRATAMENTO DO SOLO

Em média, nos dois anos de estudo, na amostragem pós-colheita/solo seco (Figura 8), houve redução significativa (Wilcoxon Signed Rank test,  $p < 0,001$ ) nos níveis de NBM (49%) e na atividade das enzimas desidrogenase (42%) e fosfatase alcalina (64%). Em relação aos dados da floração/solo úmido, os dados de CBM e FDA pós-colheita/solo seco apresentaram reduções menores (23% e 16%, respectivamente), porém significativas ( $P < 0,001$ ). A atividade da urease, avaliada apenas em 2013, não diferiu entre as duas épocas de amostragem. Devido ao insucesso nas determinações de NBM do experimento 1, na amostragem pós-colheita/solo seco de 2013, somente foram considerados os dados dos experimentos 2 e 3.

O efeito da secagem do solo ao ar na atividade enzimática depende da enzima avaliada, das condições edafoclimáticas e até mesmo da época de coleta das amostras (Abellan et al., 2011; Lorenz & Dick, 2011; Lopes et al., 2015). Em geral, a secagem ao ar tem seu maior impacto nos parâmetros associados com a população microbiana viável no solo, com menor efeito na fração catalítica estabilizada no complexo húmico-mineral (Lorenz & Dick, 2011). Isso explica a redução de 42% observada na atividade da desidrogenase, que é uma enzima associada à fração viva do solo, fato também observado por Ross (1970) e Abellan et al. (2011).



**Figura 8** - CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA em amostras coletadas na floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco. Linhas sólidas, pontilhadas e as barras representam as medianas, médias, e os 10° e 90° percentis, respectivamente. Caixas representam os 25° e 75° percentis. Os valores de cada bioindicador são expressos em: NBM – mg N kg<sup>-1</sup> solo; Urease - µg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>; Desidrogenase – mg TPF kg<sup>-1</sup> solo 24 h<sup>-1</sup>; Fosfatase Alcalina - µg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>; FDA – mg fluoresceína kg<sup>-1</sup> solo 3 h<sup>-1</sup>. Os pontos representam as médias dos tratamentos que ficaram abaixo do 10° percentil e acima do 90° percentil.

Reduções na atividade da fosfatase alcalina, após a secagem ao ar, também foram reportadas por Eivazi & Tabatabai (1977) e por Lee et al. (2007). Com relação ao ensaio de hidrólise da FDA, Bandick & Dick (1999), usando a metodologia proposta por Zelles et al. (1991), reportaram reduções na hidrólise, após a secagem ao ar, da ordem de 30%. Cabe destacar que a metodologia de Green et al. (2006), utilizada no presente estudo, foi desenvolvida com amostras de solo secas ao ar.

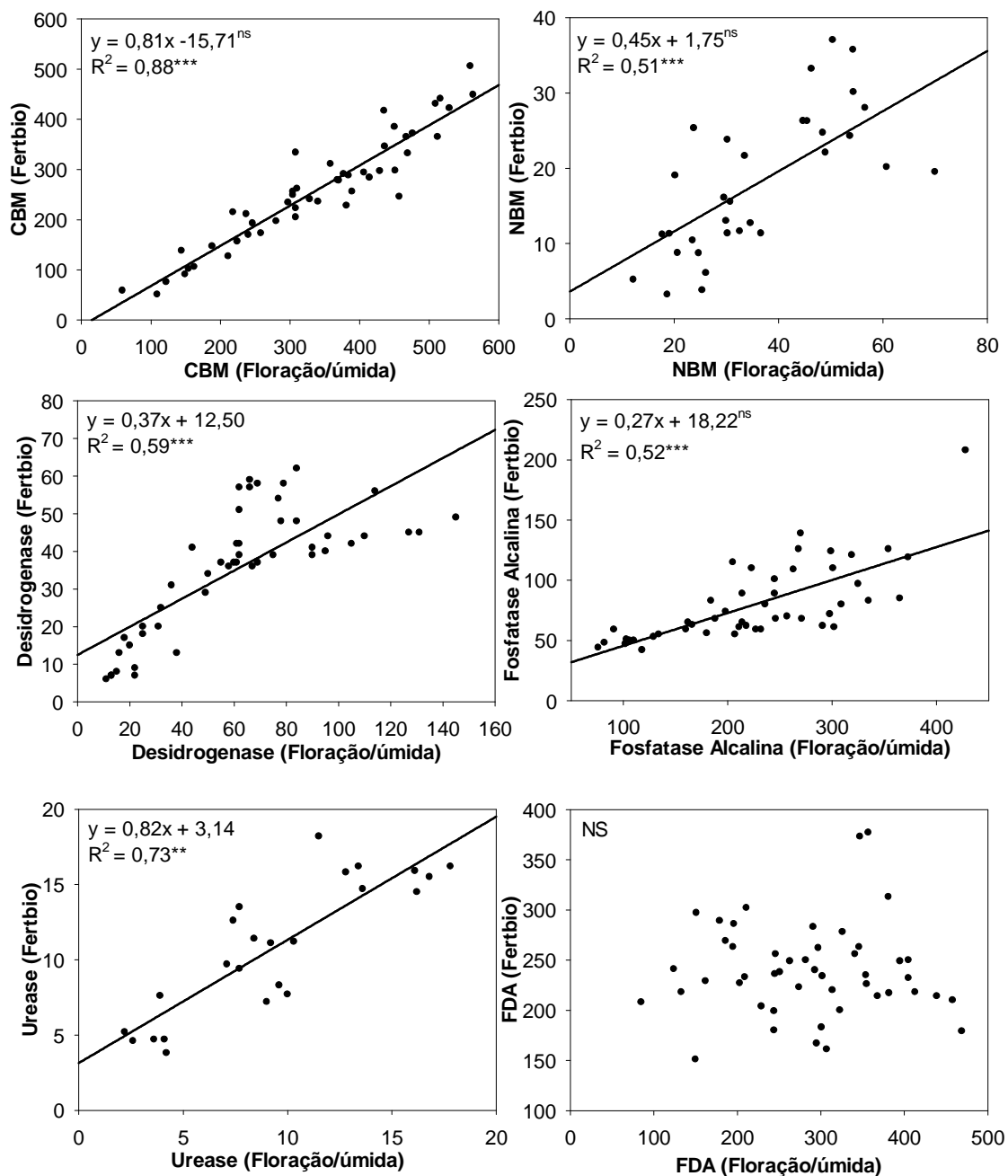
A ausência de efeitos severos da secagem ao ar na atividade da urease tem sido reportada em vários trabalhos (Kandeler & Gerber, 1988; Lee et al., 2007); inclusive após períodos de armazenamento a temperatura ambiente de dois anos (Zantua & Bremner, 1977; Pettit et al., 1976). Bandick & Dick (1999) reportaram um aumento de 20% na atividade da urease após a secagem ao ar, em um tratamento onde houve aplicação de esterco, e a ausência de efeitos da secagem onde houve aplicação de N mineral.

Considerando que as determinações de CBM na fase de pós-colheita/solo seco foram feitas após a secagem/re-umedecimento/incubação das amostras de solo, a variação de 23% nos valores de CBM, verificada nas amostragens floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco, pode ser atribuída à maior adaptação das comunidades microbianas dos solos tropicais aos processos de secagem e re-umedecimento do solo, conforme também verificado por Gestel et al. (1993) e Fierer et al. (2003). Bottner (1984) reportou que, apesar do processo de secagem do solo ter destruído de 1/3 a 1/4 da biomassa, a mesma foi restabelecida em níveis próximos aos de antes da secagem após o re-umedecimento do solo. Franzlubbers et al. (1996) e Gonçalves et al. (2002) concluíram que o pré-condicionamento de

curta duração de amostras de solo como terra fresca seca ao ar (TFSA) é promissor para a determinação do CBM quando níveis e períodos adequados de reumedecimento são adotados. Conforme mencionado anteriormente, no presente estudo, houve uma redução nos coeficientes de determinação para as relações do CBM com o RRA e com o COS, obtidos na amostragem pós-colheita/solo seco, em relação aos obtidos na amostragem da floração/solo úmido.

As reduções nos valores de NBM na amostragem pós-colheita/solo seco foram mais expressivas (49%) que as verificadas no CBM (26%), embora as amostras de solo tenham sido submetidas aos mesmos processos de secagem/reumedecimento/incubação. Uma explicação para esse fato seria a de que, ao longo desses processos, teria ocorrido a liberação de proteases para o solo, resultando em reduções do NBM, sem prejuízos para o CBM. Esses efeitos foram tão significativos que na amostragem pós-colheita/solo seco não houve relação do NBM com o RRA e com o COS, diferentemente da amostragem floração/solo úmido,

Regressões lineares (Figura 9) entre os dois conjuntos de amostras (floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco) foram ajustadas para todos os parâmetros microbiológicos avaliados. Além de significativos ( $P < 0,001$ ), os valores dos coeficientes de determinação  $R^2$  para o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina e urease (0,88; 0,51, 0,59, 0,52 e 0,73, respectivamente) evidenciam o bom ajuste dos modelos e que, para esses parâmetros, a amostragem FERTBIO foi representativa das condições verificadas na floração/solo úmido.



**Figura 9** - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA determinadas nas fases de floração/solo úmido e na pós-colheita/solo seco, nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Os valores de cada bioindicador são expressos em: NBM –  $\text{mg N kg}^{-1}$  solo; Urease -  $\mu\text{g NH}_4^+ \text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ ; Desidrogenase –  $\text{mg TPF kg}^{-1}$  solo  $24 \text{ h}^{-1}$ ; Fosfatase Alcalina -  $\mu\text{g de p-nitrofenol g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ ; FDA –  $\text{mg fluoresceína kg}^{-1}$  solo  $3 \text{ h}^{-1}$ .

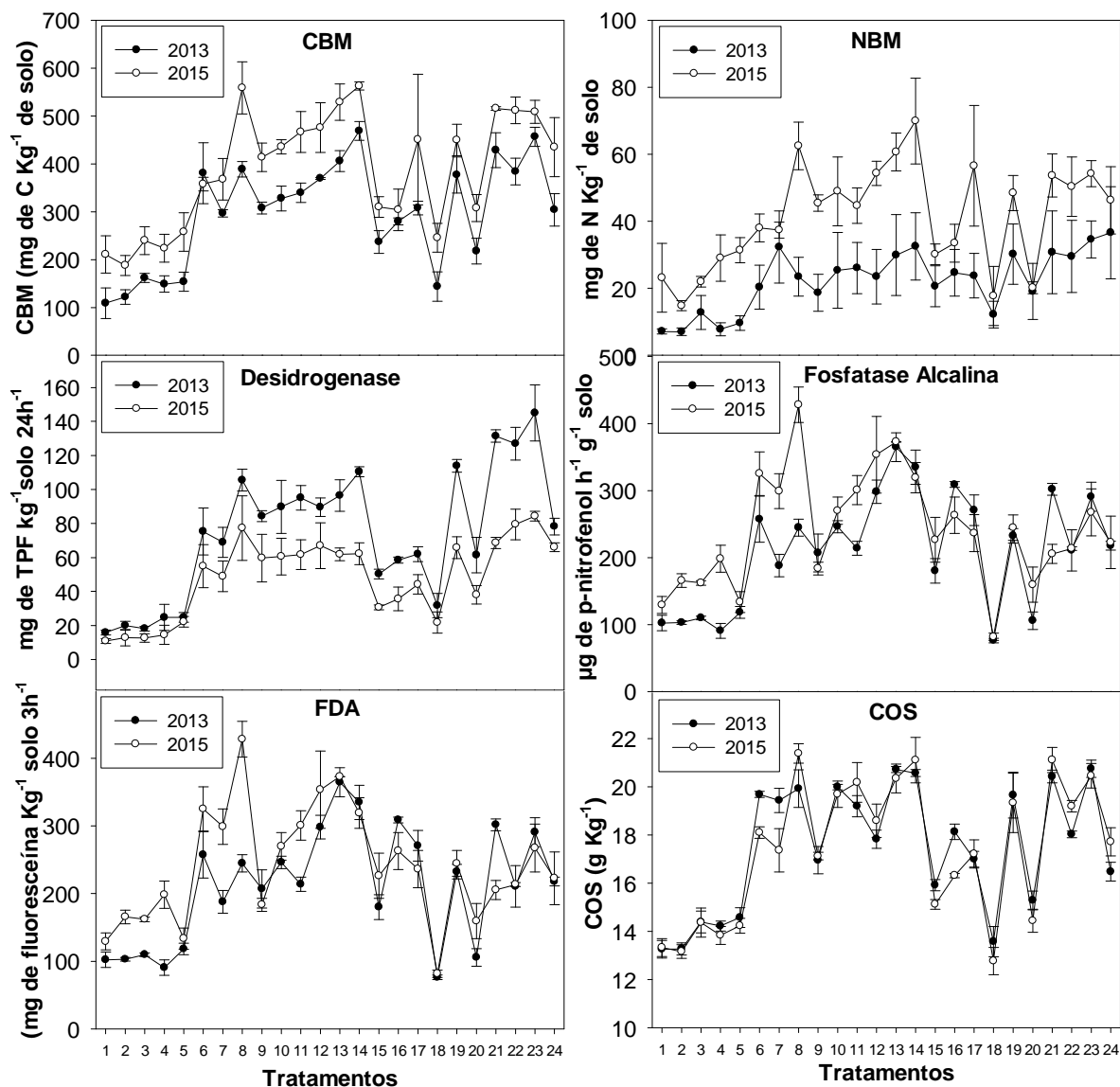


Os coeficientes de inclinação das análises de regressão entre as amostras floração/solo úmido e as amostras pós-colheita/solo seco (Figura 9) para o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina e urease foram de 0,81, 0,45; 0,37, 0,27 e 0,82 respectivamente. Como esses coeficientes indicam o desvio de uma relação 1:1 (quanto mais afastados de 1, maiores as diferenças entre os valores das duas amostragens), verifica-se novamente que o NBM, a desidrogenase e a fosfatase foram os parâmetros mais afetados com mudança na época de amostragem e nos processos de pré-tratamento das amostras de solo.

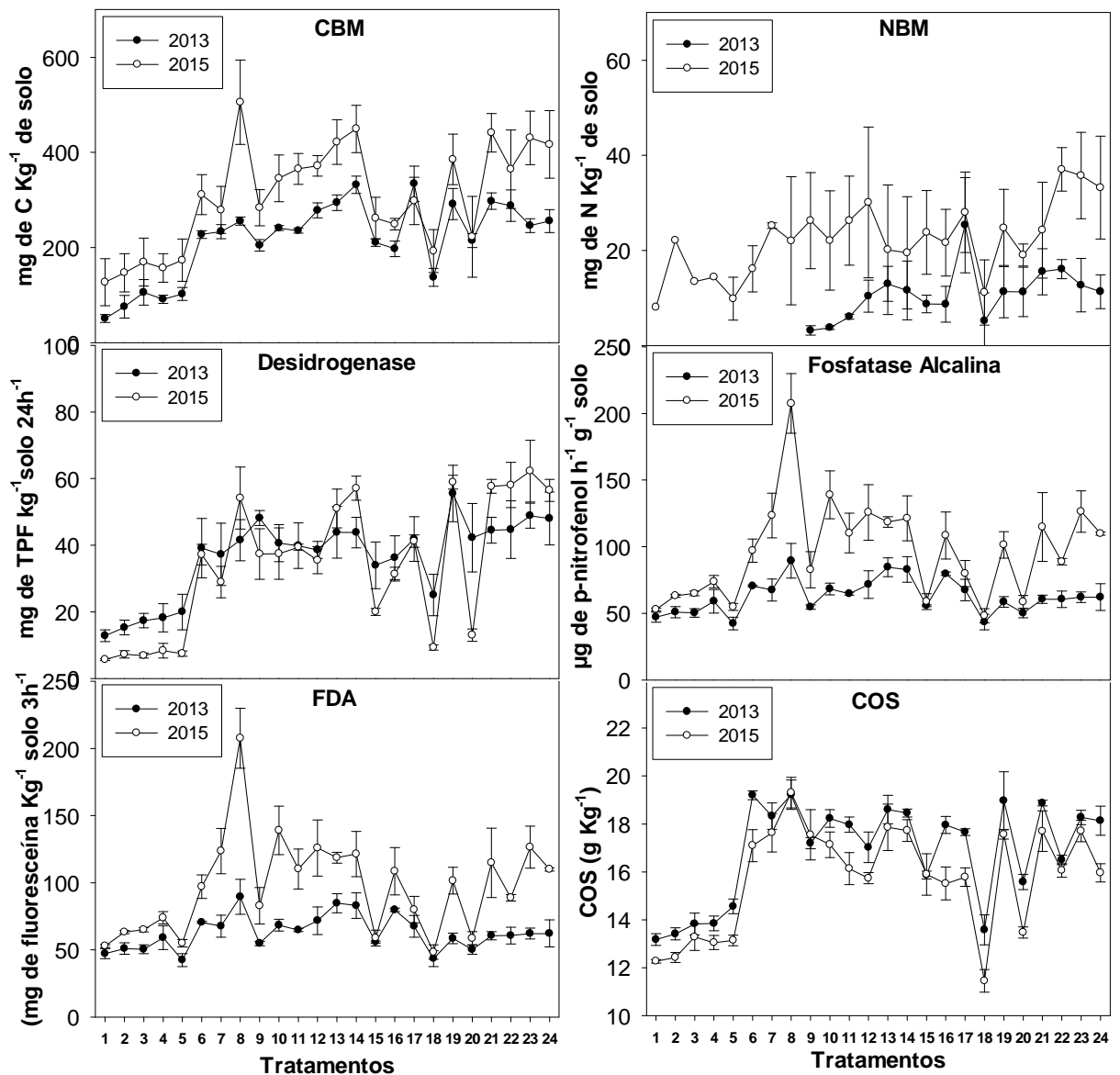
O ensaio de hidrólise de FDA foi o único parâmetro para o qual não houve relação entre os dados coletados nas duas épocas de amostragem, evidenciando que a amostragem pós-colheita/solo seco não foi representativa da floração/solo úmido.

### 3.4. VARIAÇÃO INTERANUAL DOS ATRIBUTOS

Nas figuras 10 e 11 são sumarizados os dados de CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e COS nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, com as amostras de solo coletadas nas amostragens floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco. A contribuição dos fatores ano e tratamento e de sua interação, na variância total desses bioindicadores, é apresentada na Tabela 7.



**Figura 10** - CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem floração/solo úmido. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão.



**Figura 11** - CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem pós-colheita/solo seco. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão.

Com exceção do NBM, as variâncias totais obtidas na época pós-colheita/solo seco foram menores que as da floração/solo úmido (Tabela 7), o que pode ser

atribuído ao efeito da secagem das amostras de solo ao ar. Ao reduzir a amplitude (diferença entre o maior e o menor valor de cada parâmetro, em cada amostragem), a secagem do solo também diminui a variabilidade associada a esses parâmetros.

Verifica-se na Tabela 7 que, nas duas amostragens (floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco), a maior variância total foi observada para o CBM. Na floração solo úmido, o NBM foi o parâmetro que apresentou a menor variância total, e, na pós-colheita/solo seco, a desidrogenase apresentou a menor variância total. Independentemente da época de avaliação, o fator tratamento foi o que mais contribuiu para a variância do CBM e da desidrogenase (superior a 50%). A porcentagem da variância associada ao fator ano para o CBM, NBM, desidrogenase e FDA foi maior na amostragem realizada na floração/solo úmido.

Por outro lado, o NBM, o ensaio de FDA (nas duas épocas de amostragem) e a fosfatase alcalina (na pós-colheita solo seco) foram os parâmetros que apresentaram as menores contribuições do fator tratamento na sua variância. Nesses casos, os fatores associados ao erro e a variabilidade anual tiveram contribuição significativa na variância desses parâmetros.

Considerando que baixo erro padrão e baixa variabilidade anual são pré-requisitos básicos para o uso de parâmetros microbiológicos no monitoramento de áreas agrícolas ao longo do tempo (Tscherko & Kandeler, 1997), nas condições do presente estudo, verificou-se que o CBM e a desidrogenase foram os parâmetros mais promissores. Além dessas características, a adequação desses parâmetros a amostragem realizada na pós-colheita/solo seco também se constitui em uma vantagem adicional para sua possível adoção em análises comerciais de rotina.

**Tabela 7** - Contribuição (%) dos fatores tratamento, ano e de sua interação, na variância total do CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA, nas amostragens realizadas nas fases floração/solo úmido e pós-colheita/ solo seco.

Componentes da variância <sup>(1)</sup>	CBM	NBM	Desidrogenase	Fosfatase alcalina	FDA
----- Floração solo úmido % de contribuição -----					
Tratamento	59	20,8	58,2	62,5	11,3
Ano	20,2	35,0	22,5	4,0	30,9
Tratamento x Ano	0	0	6,3	17,3	0,5
Erro	20,7	44,2	11,4	10,4	38,9
Variância total	21626	483	1456	8421	18953
----- Pós-colheita solo seco % contribuição -----					
Tratamento	65,8	3,7	59,3	25,5	3,5
Ano	1,5	14,2	0	37,1	13,3
Tratamento x Ano	1,0	0	13,6	15,9	0
Erro	31,7	82	15,9	21,5	76,7
Variância total	15386	7798	334	1553	8340

<sup>(1)</sup> O componente da variância (REP(Trat)) não foi apresentado.

#### 4. CONCLUSÕES

1. O gradiente de rendimento acumulado de grãos e de carbono orgânico do solo, além do CBM, também influenciou a atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina e urease, possibilitando a delimitação de classes de suficiência para Latossolos de Cerrado.
2. O NBM e o ensaio de hidrólise da FDA não foram eficientes como bioindicadores capazes de diferenciar os tratamentos e não tiveram suas variações associadas ao rendimento acumulado de grãos e ao carbono orgânico do solo, impossibilitando a delimitação de classes de suficiência para Latossolos de Cerrado.
3. Com exceção da urease, a amostragem realizada na pós-colheita/solo seco resultou em reduções no CBM, NBM e na atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina e na hidrólise do FDA. Essas reduções promoveram estreitamento na amplitude das classes de interpretação baixo/adequado.
4. O ensaio de hidrólise de FDA foi o único parâmetro para o qual a amostragem pós-colheita/solo seco não foi representativa da amostragem floração/solo úmido.
5. Nas condições do presente estudo, o CBM e a desidrogenase foram os parâmetros mais promissores, para o monitoramento de áreas agrícolas, com baixa variabilidade anual e boa adequação à amostragem realizada na pós-colheita/solo seco.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELLAN, M.A., BAENA, C.W., MOROTE, F.A.G., CORDOBA, M.I.P.; PEREZ, D.C. Influence of the soil storage method on soil enzymatic activities in Mediterranean forest soils. **Forest Systems** v.20, p.379 - 388, 2011.

ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; TABATABAI, M.A.; Chapter 8: Phosphorus Cycle Enzymes. In: DICK, R.P.; ed. **Methods of Soil Enzymology**. Madison: Soil Science Society of America, p.161 – 168, 2011.

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

BABUJIA, L.C.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BROOKES, P.C. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. **Soil Biology & Biochemistry**, v.42, p.2174 - 2181, 2010.

BALDIANE, N.N.Y.; et al. Use of Soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semiarid tropical regions. **Applied Soil Ecology**, v.18, p.229 - 238, 2001.

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

BASTIDA, F.; MORENO, J.L.; HERNANDEZ, T.H.; GARCÍA, C.; Microbiological degradation index of soils in a semiarid climate. **Soil Biology & Biochemistry**, v.38, p.3463 – 3473, 2006.

BINI, D.; SANTOS, C.A.; BERNAL, L.P.T.; ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M.A.; Identifying indicators of C and N cycling in a clayey Ultisol under different tillage and uses in winter. **Applied Soil Ecology**, v.76, p.95 – 101, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.12.015>

BOTTNER, P.; Response of microbial biomass to alternate moist and dry conditions in a soil incubated with <sup>15</sup>C- <sup>15</sup>N Labelled plant material. **Soil Biology & Biochemistry**. v.17, p.329 - 337, 1984.

BOWLES, T.M.; ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; CALDERÓN, F.; JACKSON, L.E.; Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape. **Soil Biology & Biochemistry**, v.68, p.252 – 262, 2014. doi:10.1016/j.soilbio.2013.10.004

BREMNER, J.M.; KEENEY, D.R.; Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate, and nitrite. **Analytica Chimica Acta**, v.32, p.485 – 495, 1965. doi:10.1016/S0003-2670(00)88973-4



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

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; CONTIN, T.L.M.; DIAS, F.L.F.; ROSSETTO, R.; MARCELINO, R.; COIMBRA, R.B.; QUAGGIO, J.A.; Ammonia volatilization from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**, v.65, p.397 - 401, 2008.

CARNEIRO, M.A.C.; SOUZA, E.D.; REIS, E.F.; PEREIRA, H.S.; AZEVEDO, W.R.; Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.147 - 157, 2009.

CARNEIRO, M.A.C.; SOUZA, E.D.; PAULINO, H.B.; SALES L.E.O.; VILELA, L.A.F.; Atributos indicadores de qualidade em solos de cerrado no entorno do parque nacional das emas, GOIÁS. **Bioscience Journal**, v.29, p.1857 - 1868, 2013.

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

D'ANDRÉA, A.F.; SILVA, M.L.N.; CURI, N.; SIQUEIRA, J.O.; CARNEIRO, M.A.C.; Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na

região do cerrado no sul do estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 913-923, 2002.

DANKE, W.C.; OLSON, R.A. Soil rest correlation, calibration, and recommendation. In: WESTERMAN, R.L. (Ed.). **Soil test and Plant Analysis**. Madison: ASA, CSSA, AND SSSA. ASA Spec. Public., p. 47-51, 1990.

DICK, R.P. Soil enzymes activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., ed. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America. p. 107-124. (Special Publication number, 35), 1994.

DICK, R.P.; RASMUSSEN, P.E.; KERLE, E.A.; Influence of long-term residue management on soil enzyme activities in relation to soil chemical properties of a wheat-fallow system. **Biology and Fertility of Soils**, v.6, p.159 – 164, 1988. doi:10.1007/BF00257667

EIVAZI F.; TABATABAI, M.A. Phosphatases in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v.9, p.167 – 172, 1977.

FERNANDES, L.A.; FURTINI NETO, A.E.; CURI, N.; LIMA, J.M.; GUEDES, G.A.A.; Fósforo e atividade de fosfatase em dois solos sob diferentes condições de uso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, p.1159 - 1170, 1998.

FERNANDES, M.F.; BARRETO, A.C.; MENDES, I. de C.; DICK, R.P. Short-term response of physical and chemical aspects of soil quality of a kaolinitic Kandiuudalfs to agricultural practices and its association with microbiological variables. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 142, p. 419-427, 2011.

FIERER, N.; SCHIMEL, J.P.; HOLDEN, P.A.; Influence of Drying–Rewetting Frequency on Soil Bacterial Community Structure, **Microbial Ecology**, v.45, p.63 - 71, 2003.

FIGUEIREDO, C.C. de; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C.; FERREIRA, E.A.B. & RAMOS, M.L.G. Microbial biomass carbon and nitrogen in response to different management systems cropped with corn in a Red Latosol in the Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 551-562, 2007

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

FRANZLUEBBERS, A. J.; HANEY, F. M.; ZUBERER, D. A. Determination of microbial biomass and nitrogen mineralization following rewetting of dried soil. **Soil Science Society of America Journal**, v.60, p.1133 - 1139, 1996.

FRAZÃO, L.A.; PICCOLO, M. de C.; FEIGL, B.J.; CERRI, C.C. & CERRI, C.E.P. Inorganic nitrogen, microbial biomass and microbial activity of a sandy Brazilian Cerrado soil under different land uses. **Agriculture Ecosystems Environment**, v. 135, p. 161-167, 2010

FRIGHETTO, R.T.S. Análise da atividade de desidrogenase. In: VALARINI, P.J. (Coord). **Indicadores biológicos e bioquímicos de qualidade do solo: Manual técnico**. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 21). Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 119 – 123, 2000.

GARCIA, M.R.L.; NAHAS, E.; Microbial populations and the activity of the soil under agricultural and agricultural-pastoral systems. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v.58, p.511 - 525, 2012.

GAJDA, A. M.; PRZEWLOKA B.; AND GAWRYJOLEK K. Changes in soil quality associated with tillage system applied. **Institute of soil science and plant cultivation**. Int. agrophys. V.27, p.133-141, 2013.

GESTEL, R. MERCKX and K. VLASSAK Microbial biomass responses to soil drying and rewetting: the fate of fast- and slow-growing microorganisms in soils from different climates **Soil Biology & Biochemistry**, v.25, p. 109–123, 1993.

GONÇALVES, A.S.; MONTEIRO, M.T.; GUERRA, J.G.M.; DE-POLLI, H. Biomassa microbiana em amostras de solos secadas ao ar e reumedecidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 651-658, 2002.

GREEN, V.S., D.E. STOTT, M. DIACK. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples. **Soil Biology & Biochemistry**, v.38, p. 693–701, 2006.

GREEN, V.S.; STOTT, D.E.; CRUZ, J.C.; CURI, N. Tillage impacts on soil biological activity and aggregation in a Brazilian Cerrado Oxisol. **Soil and Tillage Research**, v. 92, p.114 - 121, 2007.

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

JACKSON, M. L. **Análisis Químico de Suelos**. 2ª ed. MARTINEZ, J.B. (Ed.) Trad. Barcelona, Ed. Omega S.A., 662 p. 1970.

JENKINSON, D.S.; BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S.; Measuring soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, p.5 - 7, 2004.

KANDELER, E., and H. GERBER. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. **Biology and Fertility of Soils**, v.6, p.68–72. 1988.

KANDELER, E.; POLL, C.; FRANKENBERGER JR., W.T.; TABATABAI, M.A.; Chapter 10: Nitrogen Cycle Enzymes. In: DICK, R.P.; ed. **Methods of Soil Enzymology**. Madison: Soil Science Society of America, p. 211 – 245, 2011.

KEENEY, D.R.; NELSON, D.W.; Nitrogen—inorganic forms. In PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R.; (ed.) **Methods of soil analysis**. Part 2. 2<sup>nd</sup> ed. Agronomy Monograph. 9. ASA and SSSA, Madison, WI. p. 643 – 698, 1982.

LANNA, A.C.; SILVEIRA, P.M.; SILVA, M.B.; FERRARESI, T.M.; KLIEMANN, H.J.; Atividade de urease no solo com feijoeiro Influenciada pela cobertura vegetal e sistemas de plantio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, p.1933 - 1939, 2010.

LEE Y.B., LORENZ N., DICK L.K., DICK R.P. Cold storage and pretreatment incubation effects on soil microbial properties. **Soil Science Society of America Journal**, v.71, p.1299 - 1305. 2007.

LEITE, L.F.C.; OLIVEIRA, F.C.; ARAÚJO, A.S.F.; GALVÃO, S.R.S.; LEMOS, J.O.; SILVA, E.F.L.; Soil organic carbon and biological indicators in an Acrisol under tillage

systems and organic management in north-eastern Brazil. **Australian Journal of Soil Research**, v.48, p.258 – 265, 2010.

LISBOA, B.B.; VARGAS, L.K.; SILVEIRA, A.O.; MARTINS, A.F.; SELBACH, P.A.;  
Indicadores microbianos de qualidade do solo em diferentes sistemas de manejo.  
**Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.36, p.45 - 55, 2012.

LOPES, A.A.C.; SOUSA, D.M.G.; CHAER, G.M.; REIS JUNIOR, F.B.; GOEDERT,  
W.J.; MENDES, I.C. Interpretation of Microbial Soil Indicators as a Function of Crop  
Yield and Organic Carbon. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p.461 -  
472, 2013.

LOPES, A. A. de C.; SOUSA, D. M. G. de; REIS JUNIOR, F. B. dos; MENDES, I. C.  
Air-drying and long-term storage effects on  $\beta$ -glucosidase, acid phosphatase and  
arylsulfatase activities in a tropical Savannah Oxisol. **Applied Soil Ecology**, v. 93, p.  
68-77, Sept. 2015.

LORENZ, N., DICK, R.P. Sampling and Pretreatment of soil before enzyme analysis,  
in: Dick, R.P., (Ed.), **Methods of Soil Enzymology**. SSSA Book Series 9, Madison,  
p. 85-101. 2011.

LOURENTE, E.R.P.; MERCANTE, F.M.; MARCHETTI, M.E.; SOUZA, L.C.F.;  
GONÇALVES, M.C.; SILVA, M.A.G.; SOUZA, C.M.A de. Crop rotation and soil

biochemical and microbiological characteristics and corn crop yield. **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, p.829 - 842, 2010.

LUPWAYI, N.Z.; HARKER, K.N.; O'DONOVAN, J.T.; TURKINGTON, T.K.; BLACKSHAW, R.E.; HALL, L.M.; WILLENBORG, C.J.; GAN, Y.; LAFOND, G.P.; MAY, W.E.; GRANT, C.A.; Relating soil microbial properties to yields of no-till canola on the Canadian prairies. **European Journal of Agronomy** v.62, p.110 - 119, 2015.

MACIEL, M.M.F.; MELO, W.J.; CHELLI, R.A.; LEITE, S.A.S.; **Biomassa microbiana de solos sob vegetação de cerrado e diferentes usos agrícolas em Planaltina (DF)**. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DO SOLO, 13, Águas de Lindóia. Anais. Águas de Lindóia, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. CD-ROM. 1996.

MATIAS, M.C.B.S.; SALVIANO, A.A.C.; LEITE, L.F.C.; ARAÚJO, A.S.F. Biomassa microbiana e estoques de C e N do solo em diferentes sistemas de manejo, no Cerrado do Estado do Piauí. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.31, p.517 - 521, 2009.

MATSUOKA, M.; MENDES, I.C.; LOUREIRO, M.F.; Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.425 - 433, 2003.

MEDEIROS, E.V.; NOTARO, K.A.; BARROS, J.A.; MORAES, W.S.; SILVA, A.O.; MOREIRA, K.A.; Absolute and specific enzymatic activities of sandy entisol from



tropical dry forest, monoculture and intercropping areas. **Soil & Tillage Research**, v.145, p.208 – 215, 2015.

MELO, W.J.; MELO, G.M.P.; ARAUJO, A.S.F.; MELO, V.P.; **Avaliação da atividade enzimática em amostras de solo**. In: FIGUEIREDO, M.B.V.; BURITY, H.A.; OLIVEIRA, J.P.; SANTOS, C.E.R.S.; STANFORD, N.P.; ed. *Biotecnologia aplicada à agricultura: Textos de apoio e protocolos experimentais*. Brasília/Recife: Embrapa Informação Tecnológica/ Instituto Agrônômico de Pernambuco; p.153 – 87, 2010.

MENDES, I.C.; VIVALDI, L.; OLIVEIRA, J.R.A.; VARGAS, M.A.T.; RIBEIRO, J.F. **Biomassa-C e atividade microbiana em solos do bioma cerrado sob vegetação nativa**. Embrapa Cerrados: Planaltina, 3p. (Embrapa Cerrados. Pesquisa em Andamento, 4), 1999.

MENDES, I. C. **Indicadores biológicos de qualidade de solo em sistemas de plantio direto no Brasil: estado atual e perspectivas futuras**. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 31.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 15.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 13.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 10., 2014, Araxá. *Fertilidade e biologia do solo: integração e tecnologias para todos: anais*. Araxá: Núcleo Regional Leste da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2014. FertBio 2014.

MENDES, I.C.; SOUSA, D.M.G.; REIS JUNIOR, F.B.; Bioindicadores de Qualidade do Solo: Dos laboratórios de pesquisa para campo. **Caderno de ciência & tecnologia**, Brasília v.32, p.191 - 209, 2015.

MERCANTE, F.M.; GUIMARÃES, J.B.R.; MANJABOSCO, A.D.; SOARES, A.S.; BRAGA, A.C.A.; ALMEIDA, K.A. **Alterações na biomassa microbiana do solo submetido a diferentes sistemas de manejo e rotações/sucessões de culturas**. In: Reunião Brasileira de fertilidade do solo e nutrição de plantas, 24.; Reunião Brasileira sobre micorrizas, 8.; Simpósio Brasileiro de microbiologia do solo, 6.; Reunião Brasileira de biologia do solo, 3., Santa Maria, 2000. Anais. Santa Maria, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/Sociedade Brasileira de Microbiologia. CD-ROM. 2000.

NAYYAR, A., HAMEL, C.; LAFOND, G.; GOSSEN, B.D.; HANSON, K.; GERMIDA, J.; Soil microbial quality associated with yield reduction in continuous-pea. **Applied Soil Ecology**, v.43, p.115 – 121, 2009.

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

PEREIRA, A.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; KASCHUK, G.; CHUEIRE, L.M. de O.; CAMPO, R.J.; TORRES, E. Variações qualitativas e quantitativas na

microbiota do solo e na fixação biológica do nitrogênio sob diferentes manejos com soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1397-1412, 2007.

PEREZ, K.S.S.; RAMOS, M.L.G.; McMANUS, C. Nitrogênio da biomassa microbiana em solo cultivado com soja, sob diferentes sistemas de manejo, nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n. 2, p. 137-144, 2005

PETTIT, N.M.; SMITH, A.R.J.; FREEDMAM, R.B.; BURNS, R.G.; Soil urease: Activity, stability and kinetic properties. **Soil Biology & Biochemistry**, v.8, p.479 - 484, 1976.

PROSSER, J.A.; SPEIR, T.W.; STOTT, D.E . Soil oxidoreductases and FDA hydrolysis, in: Dick, R.P., (Ed.), **Methods of Soil Enzymology**. SSSA Book Series 9, Madison, p. 85 – 101, 2011.

ROSCOE, R.; VASCONCELLOS, C.A.; FURTINI NETO, A.E.; GUEDES, G.A.A.; FERNANDES, L.A.; Urease activity and its relation to soil organic matter, microbial biomass nitrogen and urea-nitrogen assimilation by maize in a Brazilian Oxisol under no-tillage and tillage systems. **Biology and Fertility of Soils**, v.32, p.52 – 59, 2000.

ROSS, D.; Effects of storage on dehydrogenase activities of soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v.2, p.55 - 61, 1970.

SANTOS, V.B. dos; CASTILHOS, D.D.; CASTILHOS, R.M.V.; PAULETTO, E.A.; GOMES, A. da S. & SILVA, D.G. da. Biomassa, atividade microbiana e teores de carbono e nitrogênio totais de um planossolo sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, nº 3, p. 333-338, 2004.

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

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

SILVA, A.P. da; BABUJIA, L.C.; FRANCHINI, J.C.; SOUZA, R.A.; HUNGRIA, M. Microbial biomass under different soil and crop managements in short- to long-term experiments performed in Brazil. **Field Crops Research**, v. 119, p. 20–26, 2010.

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

SOUZA, E.D.; CARNEIRO, M.A.C.; PAULINO, H.B.; SILVA, C.A.; BUZETTI, S. Frações do carbono orgânico, biomassa e atividade microbiana em um Latossolo Vermelho sob Cerrado submetido a diferentes sistemas de manejos e usos do solo. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, p. 323–329, 2006.

SOUZA, E.D.; COSTA, S.E.V.G.A.; ANGHINONI, I.; CARNEIRO, M.A.C.; MARTINS, A.P. & BAYER, C. Soil quality indicators in a Rhodic Paleudult under long term tillage systems. **Soil and Tillage Research**, v. 139, p. 28-36, 2014.

SPARLING,G.P.; WET, A.W.; WHALE, K.N. Interferences from plant roots in the estimation of soil microbial ATP, C, N. **Soil Biology and Biochemistry**, v.17, p.275-278, 1985.

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

TOKUDA, S.; HAYATSU, M.; Soil Microbial biomass and Fluorescein diacetate hydrolytic activity in Japanese acidic tea field soils. **Soil Science & Plant Nutrition**. v.48, p.868 - 869, 2002.

TSCHERKO, D. KANDELER, E. Ecotoxicological effects of fluorine deposits on microbial biomass and enzyme activity in grassland. **European Journal of Soil Science**, v.48, p.329 - 335, 1997.

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

VINHAL-FREITAS, I.C.; FERREIRA, A.S.; WENDLING, B.; CORRÊA, G.F.; Land use impact on microbial and biochemical indicators in agroecosystems of the Brazilian Cerrado. **Vadose Zone Journal**, v.12, p.1 – 8, 2012.

VORONEY, R.P.; WINTER, J.P.; GREGORICH, E.G. Microbe/ plant/soil interactions. In: COLEMAN, D.C.; FRY, B. (Ed.) **Carbon isotope techniques**. San Diego: Academic Press, p.77–99. (Isotopic techniques in plant, soil, and aquatic biology, 1), 1991. DOI: 10.1016/B978-0-12-179730-0.50010-2.

WALKLEY, A.; BLACK, I.A.; An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. **Soil Science**, v.63, p. 251 - 263, 1934.

WALKLEY, A. A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. **Soil Science**. v. 63, p. 251 - 263, 1947.

ZANTUA, M.I.; BREMNER, J.M.; Stability of urease in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v.9, p.135 – 140. 1977.

ZELLES, L.; ADRIAN, P.; BAI, Q.Y.; STEPPER, K.; ADRIAN, M.V.; FISCHER, K.; MAIER, A.; ZIEGLER, A.; Microbial activity measured in soils stored under different temperature and humidity conditions. **Soil Biology & Biochemistry**, v.23, p.955 – 962, 1991.

**CAPÍTULO 3:**  
**CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA EM LATOSSOLOS DETERMINADO  
POR OXIDAÇÃO ÚMIDA E COMBUSTÃO A TEMPERATURA ELEVADA**

*Artigo publicado na revista Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.50, n.11, p.1061-1070, nov. 2015, DOI: 10.1590/S0100-204X2015001100009*

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as relações entre os métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura, utilizados em determinações do carbono da biomassa microbiana, e verificar a necessidade do uso de fatores de correção entre os dois métodos. Foram utilizadas 96 amostras de solo, coletadas à profundidade de 0-10 cm em Latossolos Vermelhos argilosos de cerrado, sob cultivos anuais, pastagens, eucalipto e vegetação nativa. O carbono da biomassa microbiana foi determinado a partir de extratos de  $K_2SO_4$ , pelo método de fumigação-extração, por meio de oxidação úmida com dicromato de potássio com aquecimento externo, e por combustão a alta temperatura em analisador de C orgânico total. Observou-se relação linear positiva e significativa entre os teores de C orgânico determinados pelos dois métodos. O método de combustão a alta temperatura detecta, em média, 6,3% mais C orgânico do que o método por oxidação úmida.

**Palavras-chave:** analisador de carbono, bioindicadores, carbono orgânico, fumigação-extração, qualidade do solo.



## ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the relationships between the methods of wet oxidation and the combustion at high temperature, used in determinations of microbial biomass carbon, and to verify the necessity of using correction factors between the two methods. Ninety-six soil samples, collected at 0-10 cm soil depth in clayey Oxisol of the Cerrado region, under annual crops, pastures, eucalyptus and native vegetation were used. The microbial biomass carbon was determined from  $K_2SO_4$  extracts, using the fumigation-extraction method, by wet oxidation with potassium dichromate and external heating, and by combustion at high temperature in a total organic C analyser. A significant, positive, linear relationship between the contents of organic C, determined by the two methods, was observed. The combustion at high temperature method detected on average 6.3% more organic C than the wet oxidation method.

**Key Words:** carbon analyzer, bioindicators, organic carbon, fumigation-extraction, soil quality.

## 1. INTRODUÇÃO

A biomassa microbiana representa a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo, constituída, principalmente, por fungos, bactérias e arqueas (Oliveira et al., 2001; Mendes et al., 2009; Kaschuk et al., 2010). Esses microrganismos atuam nos processos de decomposição e síntese da matéria orgânica do solo, formação e estabilização de agregados, intemperização de rochas, biorremediação de áreas afetadas por poluentes e metais pesados e, no controle e supressão biológica de fitopatógenos (Reis Júnior & Mendes, 2007). Por todas essas razões, a biomassa microbiana é um componente importante para manter a qualidade do solo e a produtividade das plantas (Nogueira et al., 2006; Reis Júnior & Mendes, 2007). Em três experimentos de longa duração, conduzidos em Latossolo Vermelho argiloso de cerrado, Lopes et al. (2013) relataram sobre a relação significativa e direta entre o carbono da biomassa microbiana (CBM), a matéria orgânica do solo e o rendimento acumulado de grãos de soja e milho.

Uma das principais vantagens do uso do CBM e da atividade enzimática, como bioindicadores de qualidade de solo, é a sensibilidade dos parâmetros microbiológicos para detectar os efeitos de diferentes manejos do solo, em estágio anterior ao das alterações dos teores de matéria orgânica (Chaer & Tótola, 2007; Hungria et al., 2009; Silva et al., 2009). Porém, diferentemente dos indicadores químicos de fertilidade, cujos valores de referência já estão relativamente bem definidos para cada elemento e tipo de solo, é difícil medir e interpretar indicadores microbiológicos, independentemente de um controle ou referencial de comparação (Mendes et al., 2009). Com base nos princípios das curvas de calibração de

nutrientes, Lopes et al. (2013) desenvolveram um método para a interpretação de atributos microbiológicos e bioquímicos, em Latossolos Vermelhos de textura argilosa do Cerrado, que incluiu o CBM determinado pelo método fumigação-extração com oxidação úmida. Como resultado, foi publicada a primeira aproximação da Tabela de interpretação desse bioindicador nos Latossolos argilosos do Cerrado.

O método de fumigação-extração (Vance et al., 1987) é baseado na esterilização parcial (fumigação) de amostras de solo, com clorofórmio, e posterior extração do C orgânico (Joergensen, 2010). A determinação é feita com base nas diferenças entre os teores de C orgânico, extraídos com sulfato de potássio, de amostras de solo fumigadas com clorofórmio e não fumigadas. Após a extração com sulfato de potássio, o C dissolvido no extrato é oxidado por via úmida, por aquecimento com uma mistura de dicromato de potássio, ácido sulfúrico e ácido fosfórico concentrados, com aquecimento externo por 30 min, a aproximadamente 150°C, em sistema de refluxo. O excesso de dicromato é titulado com sulfato ferroso amoniacal (Brookes & Joergensen, 2005).

O C orgânico de amostras de solo também pode ser analisado por combustão, em fornos de alta temperatura (acima de 700°C), com detecção por cromatografia gasosa, espectrometria de infravermelho e gravimetria. Com os atuais equipamentos automatizados a preços relativamente acessíveis, surge também a possibilidade de uso de uma química mais limpa para as avaliações, não só do CBM, mas também da própria matéria orgânica do solo, por dispensar o uso do oxidante que contém cromo, além dos ácidos fosfórico e sulfúrico, utilizados como catalisadores.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar as relações entre os métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura, utilizados em determinações do CBM, e verificar a necessidade do uso de fatores de correção entre os dois métodos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado no campo experimental da Embrapa Cerrados, em Planaltina, DF (15° 36' 6,59" S e 47° 42' 33,38" W, a altitude de 980 m). Para avaliar as relações entre os métodos de determinação analítica do CBM, utilizaram-se dois grupos de amostras de solo, ambos coletados a profundidade de 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho argiloso de cerrado.

O primeiro grupo foi formado por 72 amostras, coletadas de 24 tratamentos provenientes de três experimentos de longa duração, em delineamento de blocos ao acaso e três repetições. Na safra 2012/2013, as parcelas desses experimentos estavam sob o cultivo de milho. Nesses 24 tratamentos, diferentes doses e formas de aplicação de superfosfato triplo possibilitaram a formação de P extraível, que produziu um gradiente de diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e de milho (RAG). Em razão dos diferentes aportes de biomassa da parte aérea e raízes das culturas, também foi estabelecido um gradiente de matéria orgânica do solo. A descrição detalhada do histórico desses três experimentos de longa duração e dos 24 tratamentos foi feita por Lopes et al. (2013).

O segundo grupo foi formado por 24 amostras, coletadas de um experimento de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) iniciado em janeiro de 2009, em uma

área de pastagem degradada e em cinco áreas sob vegetação nativa de cerrado. No experimento de ILPF, foram selecionadas duas áreas sob eucalipto e pastagem. Os renques de *Eucalyptus cloeziana* tem sete linhas, e o espaçamento entre os renques é de 22 metros. No período de 2009 a 2012, foram realizados cultivos anuais entre os renques de eucalipto, constituídos por sorgo em março de 2009, adubados com 350 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula NPK 8-20-15, e soja, adubada com 400 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula 0-20-20, nas safras 2009/2010, 2010/2011 e 2011/2012. Em fevereiro de 2012, após a colheita da soja, foi iniciado o ciclo de pastagem com o cultivo de sorgo granífero "BRS 330", adubado com 350 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula 8-20-15, em consórcio com a *Brachiaria brizantha* "BRS Piatã". Também foi incluída nas avaliações uma área de pastagem degradada (*Brachiaria brizantha* "BRS Piatã", distante aproximadamente 3 km do experimento de ILPF, formada em 2005/2006 pela integração lavoura-pecuária. A última adubação nessa área foi realizada em 2009, quando foram aplicados 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia.

Cinco áreas sob vegetação nativa de cerrado – quatro áreas de cerrado sensu stricto e uma de cerradão – foram utilizadas como referência das condições originais do solo. As áreas do experimento de ILPF (eucalipto, pastagem), a pastagem degradada e as áreas sob vegetação nativa foram divididas em três talhões de 10x10 m, que totalizaram 24 amostras.

Em todos os locais, as amostras de solo foram coletadas da camada de 0-10 cm, nos meses de janeiro e fevereiro de 2013 (época chuvosa), com uso de um trado holandês de 5 cm de diâmetro. Das parcelas dos 24 tratamentos que estavam sob cultivo de milho, foram coletadas 20 subamostras, tendo sido três no centro das linhas de plantio e 17 nas entrelinhas. Das áreas sob cerrado nativo, eucalipto,

pastagem e pastagem degradada, cada amostra de solo foi composta por nove subamostras, que foram homogeneizadas para a obtenção de uma amostra composta por parcela. No total, foram obtidas 96 amostras – 72 amostras dos três experimentos de longa duração e 24 das áreas sob cerrado nativo, ILPF (eucalipto e pastagem) e pastagem degradada – e suas características químicas estão apresentadas na Tabela 1.

Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, transportadas para o laboratório e armazenadas a 4°C até o momento da realização das análises. No laboratório, as amostras foram passadas por peneira de malha de 4 mm, e os resíduos de plantas e raízes foram retirados manualmente.

Para a estimativa do CBM, utilizou-se o método de fumigação-extração (FE), proposto por Vance et al. (1987). Para cada amostra, realizaram-se três repetições analíticas fumigadas e três não fumigadas de 20 g cada uma. Quando necessário, o teor de umidade das amostras foi ajustado, para que 55% do espaço poroso do solo fosse preenchido por água. Estas amostras foram pré-incubadas, no escuro, à temperatura ambiente, por um período de sete dias. Em seguida, metade das amostras foi fumigada por 48 horas, em um dessecador que continha uma placa de Petri com 25 mL de clorofórmio sem álcool. Durante este período, as amostras não fumigadas foram mantidas em condição ambiente. O CBM foi extraído pela adição de 50 mL de uma solução de sulfato de potássio ( $K_2SO_4$  a  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ) às amostras de solo que foram, em seguida, submetidas à agitação horizontal (150 rpm) por 40 min. Depois disso, as amostras foram filtradas em papel-filtro Whatman nº 2.

**Tabela 1-** Atributos químicos das amostras de solo dos experimentos avaliados.

Tratamento	COS g Kg <sup>-1</sup>	pH H <sub>2</sub> O	Al --- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ---	H+Al	P --- mg dm <sup>-3</sup> ---	K	Ca --- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ---	Mg
Experimentos I, II e III								
1	13,30	5,42	0,23	5,67	0,93	77,00	1,98	0,54
2	13,30	5,66	0,09	5,12	1,05	92,67	2,20	0,74
3	14,40	5,47	0,21	5,77	1,02	57,00	2,25	0,75
4	14,20	5,59	0,14	5,33	1,16	84,67	2,12	0,79
5	14,60	5,55	0,16	5,30	1,29	78,00	2,24	0,77
6	19,70	5,65	0,10	5,77	9,68	99,33	3,67	1,39
7	19,40	5,59	0,07	5,82	10,90	71,67	3,37	1,19
8	19,90	5,52	0,16	6,23	10,44	77,33	3,75	1,23
9	17,00	5,21	0,40	6,50	5,46	79,67	2,31	0,79
10	20,00	5,24	0,24	6,76	11,50	64,67	3,47	1,10
11	19,20	5,28	0,27	7,08	32,87	56,67	3,47	1,07
12	17,80	5,35	0,25	7,09	3,62	95,33	2,75	1,19
13	20,70	5,37	0,13	6,68	11,87	88,00	3,97	1,83
14	20,60	5,33	0,23	6,79	33,10	61,33	3,97	1,61
15	15,90	5,09	0,58	6,94	2,75	79,33	1,89	0,73
16	18,10	5,33	0,30	6,60	8,50	61,00	3,23	1,13
17	17,00	5,22	0,44	6,99	14,89	52,67	2,65	1,34
18	13,60	5,00	0,64	6,13	1,12	75,00	1,27	0,47
19	19,70	5,19	0,29	6,76	8,75	63,00	3,18	1,12
20	15,30	5,06	0,52	6,93	1,39	82,00	1,88	0,90
21	20,40	5,21	0,28	6,96	17,46	52,67	3,07	0,93
22	18,00	5,25	0,25	6,57	6,91	81,33	2,88	1,14
23	20,70	5,30	0,25	6,69	8,17	54,33	3,01	0,90
24	16,48	5,19	0,39	6,41	2,70	61,00	2,44	0,93
iLPF e Cerrados								
Eucalipto	18,12	5,12	0,18	5,33	1,16	52,67	2,00	1,19
Pastagem	19,36	5,49	0,08	4,32	2,93	122,00	2,70	1,39
Pastagem Degradada	17,03	4,83	0,46	6,20	4,28	116,00	1,25	0,61
Cerrado 1	19,56	4,99	1,04	7,85	1,03	37,67	0,54	0,35
Cerrado 2	19,21	4,96	1,38	7,53	0,96	32,33	0,25	0,16
Cerrado 3	23,91	4,95	1,70	9,29	1,43	43,67	0,23	0,33
Cerrado 4	22,86	5,14	1,21	8,98	0,74	28,00	0,04	0,15
Cerrado 5	27,15	3,85	2,63	11,92	1,47	64,67	0,07	0,21

Com os extratos de  $K_2SO_4$ , foram utilizados dois métodos para a determinação do CBM: oxidação úmida com dicromato de potássio, sob aquecimento externo, e subsequente titulação do agente oxidante não consumido na oxidação da matéria orgânica, durante a oxidação úmida com sulfato ferroso amoniacal (Vance et al. (1987), descrito em detalhes em Oliveira et al., 2001); e combustão a alta temperatura, com o analisador de C orgânico total (vario TOC cube, Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, Alemanha) com detector de infravermelho. Para a determinação no analisador de C orgânico, 4 mL do extrato de sulfato de potássio foram transferidos para frascos de vidro (10 mL) e, em seguida foram diluídos a 1:1 com água destilada. Utilizou-se o módulo TOC/TNb precise (C orgânico total e N total combinado) de 1-100 ppm, e a calibração foi realizada com uma solução padrão de biftalato ácido de potássio a 50 ppm. A injeção das amostras foi automática (200  $\mu$ L) com uso de um carrossel com capacidade para 50 frascos.

Em ambos os métodos, o CBM foi estimado pela diferença entre o C extraído das amostras fumigadas e não fumigadas (EC), com um fator de correção kEC de 0,35 (Voroney et al., 1991).

Para a avaliação da distribuição dos dados de C orgânico extraído das amostras fumigadas e não fumigadas, foram gerados gráficos do tipo boxplot, em que foram avaliados as medianas, as médias e os valores mínimos e máximos das determinações. Para avaliar se as medidas apresentavam distribuição normal, utilizou-se um histograma com a distribuição das diferenças observadas entre os dois métodos. Posteriormente, realizou-se um teste de pareamento e aplicou-se o teste t de Student, para avaliar se as diferenças entre os métodos foram significativas ou não.



As relações entre os métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura foram determinadas por meio de análises de regressão com os teores de C orgânico extraído das amostras fumigadas e não fumigadas e, também, com os valores de CBM. Em ambos os casos, os valores obtidos pelo método de combustão a alta temperatura foram utilizados como variável independente (x). Os fatores de correção dos teores obtidos no TOC, para o método de oxidação úmida, foram calculados por meio do ajuste de uma equação linear com intersecção na origem. As equações e os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), bem como a significância dos modelos e dos parâmetros dos modelos, foram obtidos com auxílio do procedimento PROC REG do programa SAS (SAS Institute, Cary, NC, EUA), com o valor do intercepto igual a zero.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se relação linear positiva e significativa entre os teores de C orgânico, extraído das amostras fumigadas e não fumigadas pelos dois métodos - oxidação úmida e combustão a alta temperatura (Figura 1). A equação que descreveu essa relação foi a de um modelo linear ( $y = 0,942 x$ ), com  $R^2 = 0,926$  ( $p < 0,0001$ ). O coeficiente angular da regressão linear, 0,942, mostra que a relação entre os dois métodos foi bastante próxima de 1, o que indica que os teores de C, determinados a partir da oxidação úmida, foram inferiores aos obtidos por combustão no analisador de C orgânico.

O teor médio geral de C orgânico de todas as amostras (fumigadas e não fumigadas) determinadas por combustão a alta temperatura (301 mg de C por kg

solo) foi 6,3% maior do que o de todas as amostras determinadas por oxidação úmida (283 mg de C por kg de solo) (Tabela 2). O teste de pareamento dos valores de C orgânico, obtidos via analisador de C orgânico e oxidação úmida, mostrou que essa diferença entre as duas determinações foi significativa pelo teste t de Student ( $p = 0,0001$ ). As diferenças entre os valores de C orgânico, obtidos pelos dois métodos, apresentaram distribuição normal pelo teste Kolmogorov-Smirnov ( $p < 0,01$ ).

Verificou-se que, no total das 96 amostras avaliadas, os métodos de determinação via combustão a alta temperatura e via oxidação úmida apresentaram, para os teores de C orgânico de origem microbiana, resultados médios, mínimos, máximos e medianas muito próximos (Figura 1). Os coeficientes de variação foram similares.

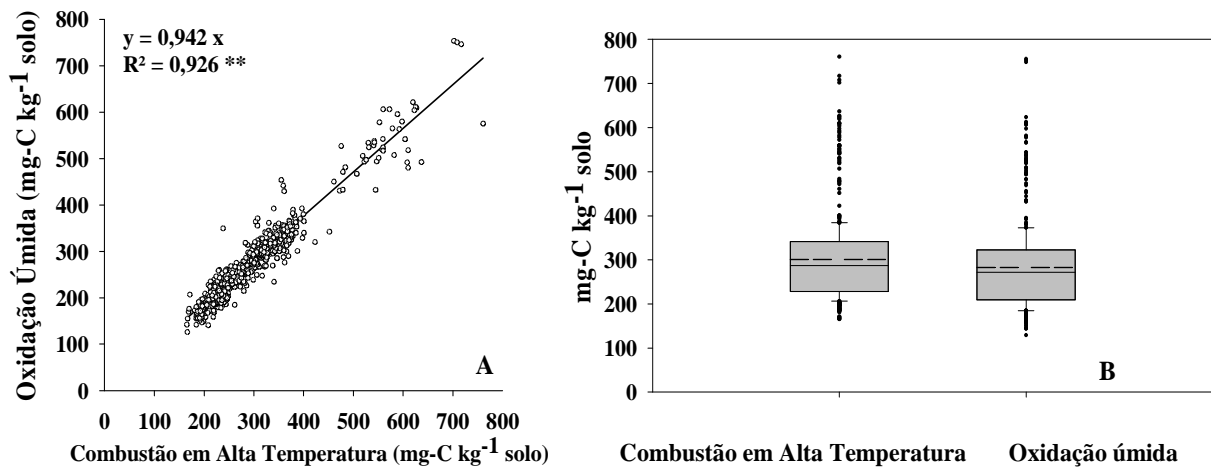
A equação de regressão que representou a relação entre os teores de CBM, determinados pelo método oxidação úmida (y) e combustão a alta temperatura (x), foi  $y = 0,938 x$ , com  $R^2 = 0,879$  ( $p < 0,0001$ ), o que evidencia a relação linear positiva e significativa entre os dois métodos (Figura 2). Verifica-se que, na determinação por combustão a alta temperatura, a média geral dos valores de CBM ( $380 \text{ mg C kg}^{-1}$  solo) foi 5,55% maior do que na oxidação úmida ( $360 \text{ mg C kg}^{-1}$  solo), valor similar ao obtido para os teores de C orgânico das amostras fumigadas e não fumigadas (Tabela 3).

Alguns autores compararam ambos os métodos utilizados no presente trabalho e verificaram que o de combustão a alta temperatura recupera mais C orgânico do solo do que o de oxidação úmida com dicromato de potássio (Rheinheimer et al., 2008; Segnini et al., 2008; Tivet et al., 2012). A subestimação do

C orgânico pelo método com oxidação úmida ocorre porque esta não é capaz de oxidar as formas de C do solo que se encontram mais protegidas em microagregados ou complexadas com a fração mineral do solo; assim, ocorre apenas uma oxidação parcial da matéria orgânica (Rheinheimer et al., 2008; Tivet et al., 2012). Quando as determinações do C orgânico – por oxidação úmida com dicromato – utilizam uma fonte externa de calor (método de Mebius), utiliza-se um fator de correção de 1,12 para os solos subtropicais (Tedesco et al., 1995), para compensar os problemas relacionados à recuperação incompleta do C orgânico e à concomitante subestimação desses valores.

Nos Latossolos argilosos do Cerrado, embora as condições em que o C orgânico de origem microbiana, determinado pelo método de oxidação úmida com aquecimento externo, sejam suficientes para quantificar praticamente a totalidade do C solúvel presente no extrato de sulfato de potássio, uma pequena parte desse C não é quantificada, e os valores obtidos pelo método de combustão a alta temperatura, em analisador de C orgânico, são 6,3% maiores.

Wu et al. (1990) trabalharam com uma variedade maior de solos, cujos teores de C orgânico variaram de 0,9 a 4,16%, e observaram 19,44% mais C orgânico medido em um analisador UV-persulfato do que pela oxidação úmida, apesar da forte relação linear ( $r = 0,997$ ) entre os métodos. Por essa razão, os autores propuseram que, para determinações em analisadores de C, todos os valores fossem divididos por 1,194, para uma melhor comparação com dados obtidos por oxidação úmida. A aplicação do fator 1,194 ao valor do kEC adotado pelos autores (0,38) deu origem ao valor de 0,45, que tem sido usado como kEC quando as determinações do C orgânico são feitas de forma automatizada (Cai et al., 2011).



**Figura 1** - Relação entre o C-orgânico extraído das amostras fumigadas e não fumigadas determinados por oxidação úmida e combustão em alta temperatura (A) e “boxplot” com a distribuição desses valores (B), em que o ponto inferior refere-se ao menor valor encontrado, o ponto superior representa o maior valor encontrado, a linha contínua representa a mediana e a linha tracejada refere-se à média. Os pontos (A) representam os valores das três repetições de cada um dos 32 tratamentos. \*\*,  $p < 0,0001$ .

No presente estudo, o método de combustão em forno de alta temperatura detectou, em média, 6,3% mais C orgânico do que o método de oxidação úmida, diferentemente do observado nos solos analisados por Wu et al. (1990), os quais apresentavam características químicas, físicas e mineralógicas distintas dos latossolos argilosos de Cerrado. Ou seja, a diferença dos valores a mais de C orgânico dos dois estudos foi três vezes menor nos latossolos de cerrado (19,44/6,3). Para explicar essa diferença, fatores relacionados aos solos avaliados e às determinações analíticas utilizadas devem ser considerados.

**Tabela 2** - Carbono orgânico das amostras fumigadas e não fumigadas determinados por oxidação úmida e combustão em alta temperatura dos 32 tratamentos avaliados.

Tratamentos	Fumigadas		Não fumigadas	
	Oxidação Úmida	Combustão em alta temperatura	Oxidação Úmida	Combustão em alta temperatura
	----- mg C kg <sup>-1</sup> solo -----			
<b>Experimentos I, II e III</b>				
1	249,2	275,7	220,2	237,6
2	267,7	273,6	219,5	231,0
3	271,9	293,3	235,9	236,6
4	275,7	291,7	226,1	239,5
5	269,8	286,4	226,6	232,2
6	318,6	336,4	223,1	225,8
7	313,3	334,4	223,5	230,4
8	333,6	358,6	207,2	222,3
9	306,2	318,5	203,4	210,8
10	303,7	326,6	186,5	211,4
11	306,8	323,9	186,4	205,0
12	336,6	340,6	188,0	211,2
13	308,9	343,9	177,4	201,8
14	341,2	366,1	177,2	202,0
15	305,7	318,1	217,2	236,5
16	289,9	296,0	181,8	198,0
17	314,0	327,1	196,8	219,5
18	262,5	281,0	209,5	231,8
19	345,4	361,7	200,8	229,8
20	304,9	317,4	231,9	241,0
21	353,8	375,8	199,3	225,4
22	350,1	374,0	207,4	240,3
23	354,2	386,1	213,4	226,3
24	318,9	337,3	226,5	230,5
<b>iLPF e Cerrados</b>				
Eucalipto	290,6	345,3	171,8	187,0
Pastagem	298,9	339,9	183,6	184,8
Pastagem degradada	319,8	358,1	172,0	192,3
Cerrado 1	503,1	579,8	289,1	315,9
Cerrado 2	483,1	509,1	282,9	284,4
Cerrado 3	532,4	532,4	296,3	313,5
Cerrado 4	578,1	628,4	319,7	332,4
Cerrado 5	617,9	601,9	363,9	323,5
Média	344,6	366,9	220,8	234,8
Relação combustão em alta temperatura /oxidação úmida		1,065		1,063

**Tabela 3** - Carbono da biomassa microbiana determinado por oxidação úmida e combustão em alta temperatura dos 32 tratamentos avaliados.

Tratamentos	Oxidação úmida ----- mg C kg <sup>-1</sup>	Combustão em alta temperatura solo -----
Experimentos I, II e III		
1	82	108
2	137	121
3	134	162
4	141	149
5	152	154
6	255	380
7	256	297
8	424	389
9	293	307
10	351	327
11	316	340
12	424	369
13	375	405
14	468	469
15	240	236
16	308	279
17	334	307
18	165	143
19	413	376
20	208	218
21	462	429
22	384	383
23	402	456
24	329	303
iLPF		
Eucalipto	350	451
Pastagem	347	457
Pastagem degradada	428	473
Cerrado 1	571	641
Cerrado 2	639	617
Cerrado 3	766	848
Cerrado 4	725	795
Cerrado 5	608	753
Média	359	380
Relação combustão em alta temperatura /oxidação úmida	1,058	

A composição das comunidades microbianas, em diferentes tipos de solo, pode resultar em mudanças no C microbiano passível de extração com  $K_2SO_4$  (Dictor et al., 1998). Esses fatores resultariam em uma maior capacidade de detecção, por oxidação úmida, do C microbiano extraído com sulfato de potássio nos latossolos de cerrado, o que pode diminuir a diferença entre os teores de C microbiano pelos dois métodos (oxidação úmida e combustão a alta temperatura).

É importante observar, também, que no estudo de Wu et al (1990) foi utilizado um analisador UV-persulfato, aparelho em que o C orgânico, em presença de persulfato de potássio, é oxidado pela luz ultravioleta a  $CO_2$ , que é quantificado com um detector de infravermelho. Embora Joergensen & Brookes (1991) tenham reportado que os analisadores UV/persulfato e os de combustão em fornos de alta temperatura tinham desempenho semelhantes, para os valores de  $E_c$  (diferença de C orgânico entre as amostras fumigadas e não fumigadas), em estudo posterior, Joergensen & Olf (1998) verificaram que os analisadores com oxidação em fornos de alta temperatura extraíram quantidades maiores de C dos extratos das amostras não fumigadas, tendo apresentado maior capacidade para detecção de compostos recalcitrantes, tais como compostos aromáticos. Isso pode eliminar as interferências relacionadas aos aparelhos utilizados, pois, no presente estudo, utilizou-se um analisador de C baseado na combustão a alta temperatura, com melhor capacidade para detecção do C orgânico, conforme Joergensen & Olf (1998).

A definição dos valores  $kEC$  – taxa de recuperação do C microbiano após a extração com  $K_2SO_4$  – é, sem dúvida, um dos pontos críticos do método FE, pois depende dos atributos químicos e físicos dos solos. Martens (1995) revisou vários trabalhos em que o fator  $kEC$  foi determinado por diferentes métodos, e obteve

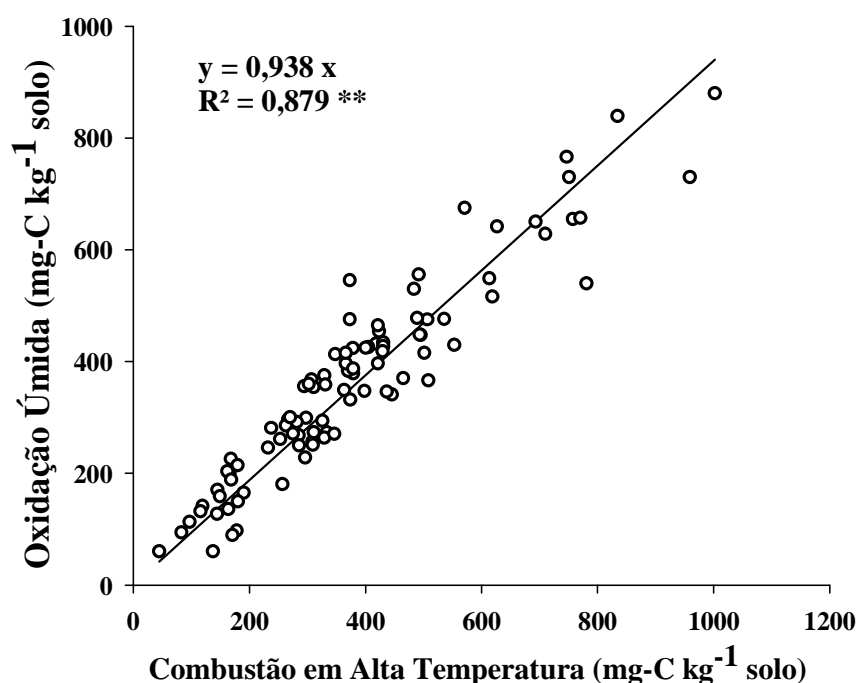
valores entre 0,1 e 0,98. Entretanto, conforme observado por Jenkinson et al. (2004), valores-padrão podem ser utilizados para diferentes tipos de solo, sem grandes erros. Voroney et al. (1991), por exemplo, sugeriram o valor de kEC de 0,35 como um valor geral para determinações da eficiência de extração do C microbiano, enquanto Ross (1990) sugeriu um valor de 0,33.

No presente estudo, pelo fato de o método de combustão em forno de alta temperatura ter detectado 6,3% a mais de C microbiano, propõe-se que esse valor não seja incorporado diretamente ao kEC, pois é evidente que essa quantidade pode variar de solo para solo. Assim, o cálculo da biomassa deve ser realizado normalmente, com base na diferença entre o C extraído das amostras fumigadas e não fumigadas (EC), com utilização de um fator de correção para estimar a taxa de recuperação do C microbiano após a extração com  $K_2SO_4$ . No presente estudo, optou-se pelo valor geral de kEC de 0,35 (Voroney et al., 1991). Quando houver necessidade de conversão dos valores de CBM obtidos por combustão a alta temperatura, para oxidação úmida, os mesmos valores deverão ser multiplicados pelo coeficiente de regressão da equação  $y = 0,938 x$ , em que x representa o método de combustão a alta temperatura, e y, o método de oxidação úmida (Figura 2).

O uso direto do kEC de 0,45, que já traz embutida a quantidade de C a mais extraída pelo método da combustão, conforme proposto no trabalho de Wu et al. (1990), resulta em subestimação dos valores de C da biomassa microbiana, por não levar em consideração as variações da capacidade de detecção do C microbiano por oxidação úmida dos diferentes solos. No presente estudo, a aplicação do valor de kEC de 0,45, que traz embutido a quantidade de C a mais extraída por combustão a



alta temperatura, a um  $E_c$  hipotético de 100, obtido por combustão a alta temperatura, resultaria em um valor de CBM de 222 mg de C  $\text{kg}^{-1}$  de solo, 22% inferior ao valor obtido com o  $kEC$  normal de 0,35, que resulta em um valor de CBM de 285 mg de C  $\text{kg}^{-1}$  de solo. Essa diferença entre as duas formas de cálculo é suficiente para influenciar a interpretação dos valores do CBM, com base nas tabelas desenvolvidas por Lopes et al. (2013).



**Figura 2** - Relação entre o carbono da biomassa microbiana determinado por oxidação úmida e combustão em alta temperatura. Os pontos representam os valores das três repetições de cada um dos 32 tratamentos analisados. \*\*,  $p < 0,0001$ .

O lançamento de analisadores de C orgânico a preços mais acessíveis abre a perspectiva de que os laboratórios de pesquisa passem a utilizá-los de forma mais rotineira, em razão das vantagens com automação das análises (maximização da eficiência do uso de mão de obra laboratorial) e baixa geração de resíduos no meio-ambiente. Além desses fatos e da excelente relação com o método de oxidação úmida, o uso desses equipamentos evita erros de operação, como aqueles observados durante a titulação (técnica em que o erro do ponto final da titulação, feito de maneira visual, pode produzir resultados inconsistentes). Assim, nos Latossolos argilosos de Cerrado, recomenda-se o uso do kEC normal, isto é, sem a incorporação do fator de correção de 1,194, conforme proposto por Wu et al. (1990). Deve-se destacar que os solos utilizados no presente estudo englobavam diferentes sistemas de uso (cultivos anuais sob PD e PC, pastagens, sistemas integrados com floresta e áreas sob vegetação nativa), por isso, para a utilização de equipamentos de combustão a alta temperatura para a determinação do CBM, recomenda-se a equação de regressão  $y = 0,938 x$  ( $x = \text{TOC}$  e  $y = \text{oxidação úmida}$ ), para a conversão dos valores para oxidação úmida, o que facilita a comparação de resultados e a sua interpretação.

#### 4. CONCLUSÕES

1. O método de combustão em forno de alta temperatura detecta, em média, 6,3% mais C orgânico do que o método de oxidação úmida.
2. A equação  $y = 0,938(x)$  é apropriada para a conversão dos valores de C da biomassa microbiana, determinados por combustão a alta temperatura (x), em valores determinados pelo método de oxidação úmida (y), para Latossolos argilosos de cerrado.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BROOKES, P.C.; JOERGENSEN, R.G. Microbial biomass measurements by fumigation-extraction. In: BLOEM, J.; HOPKINS, D.W.; BENEDETTI, A. (Ed.). **Microbiological methods for assessing soil quality**. Wallingford: CABI, 2005. p.77-83. DOI: 10.1079/9780851990989.0077.

CAI, Y.F.; PENG, C.; QIU, S.; LI, Y.T.; GAO, Y.H. Dichromate digestion-spectrophotometric procedure for determination of soil microbial biomass carbon in association with fumigation-extraction. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.42, p.2824-2834, 2011. DOI: 10.1080/00103624.2011.623027.

CHAER, G.M.; TÓTOLA, M.R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1381-1396, 2007. DOI: 10.1590/S0100-06832007000600016.

DICTOR, M.-C.; TESSIER, L.; SOULAS, G. Reassessment of the Kec coefficient of the fumigation-extraction method in a soil profile. **Soil Biology and Biochemistry**, v.30, p.119-127, 1998. DOI: 10.1016/S0038-0717(97)00111-9.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R.A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v.42, p.288-296, 2009. DOI: 10.1016/j.apsoil.2009.05.005.

JENKINSON, D.S.; BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S. Measuring soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, p.5-7, 2004. DOI: 10.1016/j.soilbio.2003.10.002.

JOERGENSEN, R.G.; BROOKES, P.C. Soil microbial biomass estimations by fumigation extraction. **Mitteilungen der Deutschen Bodenkundliche Gesellschaft**, v.66, p.511-514, 1991.

JOERGENSEN, R.G.; OLFS, H.-W. The variability between different analytical procedures and laboratories for measuring soil microbial biomass C and biomass N by the fumigation extraction method. **Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde**, v.161, p.51-58, 1998. DOI: 10.1002/jpln.1998.3581610109.

JOERGENSEN, R.G. Organic matter and micro-organisms in tropical soils. In: DION, P. (Ed.). **Soil biology and agriculture in the tropics**. Berlin: Springer, 2010. p.17-44. (Soil Biology, 21). DOI: 10.1007/978-3-642-05076-3\_2.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology and Biochemistry**, v.42, p.1-13, 2010. DOI: 10.1016/j.soilbio.2009.08.020.

LOPES, A.A. de C.; SOUSA, D.M.G. de; CHAER, G.M.; REIS JUNIOR, F.B. dos; GOEDERT, W.J.; MENDES, I.C.; Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p.461-472, 2013. DOI: 10.2136/sssaj2012.0191.

MARTENS, R. Current methods for measuring microbial biomass C in soil: potentials and limitations. **Biology and Fertility of Soils**, v.19, p.87-99, 1995. DOI: 10.1007/BF00336142.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; REIS-JUNIOR, F.B. dos; FERNANDES, M.F.; CHAER, G.M.; MERCANTE, F.M.; ZILLI, J.E. **Bioindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade?** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2009. 31p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 246).

NOGUEIRA, M.A.; ALBINO, U.B.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; BRAUN, G.; CRUZ, M.F.; DIAS, B.A.; DUARTE, R.T.D.; GIOPPO, N.M.R.; MENNA, P.; ORLANDI, J.M.; RAIMAM, M.P.; RAMPAZO, L.G.L.; SANTOS, M.A.; SILVA, M.E.Z.; VIEIRA, F.P.; TOREZAN, J.M.D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, G. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.115, p.237-247, 2006. DOI: 10.1016/j.agee.2006.01.008.

OLIVEIRA, J.R.A.; MENDES, I.C.; VIVALDI, L. Carbono da biomassa microbiana em solos de cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo: avaliação dos métodos fumigação-incubação e fumigação-extração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.863-871, 2001. DOI: 10.1590/S0100-06832001000400009.

REIS JÚNIOR, F.B. dos; MENDES, I. de C. **Biomassa microbiana do solo.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 40p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 205).

RHEINHEIMER, D. dos S.; CAMPOS, B.-H.C. de; GIACOMINI, S.J.; CONCEIÇÃO, P.C.; BORTOLUZZI, E.C. Comparação de métodos de determinação de carbono

orgânico total no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.435-440, 2008. DOI: 10.1590/S0100-06832008000100041.

ROSS, D.J. Estimation of soil microbial C by a fumigation-extraction method: influence of seasons, soils and calibration with the fumigation-incubation procedure. **Soil Biology and Biochemistry**, v.22, p.295-300, 1990. DOI: 10.1016/0038-0717(90)90103-7.

SEGNINI, A.; SANTOS, L.M. dos; SILVA, W.T.L. da; MARTIN-NETO, L.; BORATO, C.E.; MELO, W.J. de; BOLONHEZI, D. Estudo comparativo de métodos para a determinação da concentração de carbono em solos com altos teores de Fe (Latosolos). **Química Nova**, v.31, p.94-97, 2008. DOI: 10.1590/S0100-40422008000100020.

SILVA, L.G. da; MENDES, I. de C.; REIS JUNIOR, F.B.; FERNANDES, M.F.; MELO, J.T. de; KATO, E. Atributos físicos, químicos e biológicos de um Latossolo de cerrado em plantio de espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.613-620, 2009. DOI: 10.1590/S0100-204X2009000600010.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p. (UFRGS. Boletim técnico, 5).

TIVET, F.; SÁ, J.C. de M.; BORSZOWSKI, P.R.; LETOURMY, P.; BRIEDIS, C.; FERREIRA, A.O.; SANTOS, J.B. dos; INAGAKI, T.M. Soil carbon inventory by wet oxidation and dry combustion methods: effects of land use, soil texture gradients, and sampling depth on the linear model of C-equivalent correction factor. **Soil Science Society of America Journal**, v.76, p.1048-1059, 2012. DOI: 10.2136/sssaj2011.0328.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.703-707, 1987. DOI: 10.1016/0038-0717(87)90052-6.

VORONEY, R.P.; WINTER, J.P.; GREGORICH, E.G. Microbe/ plant/soil interactions. In: COLEMAN, D.C.; FRY, B. (Ed.) **Carbon isotope techniques**. San Diego: Academic Press, 1991. p.77-99. (Isotopic techniques in plant, soil, and aquatic biology, 1). DOI: 10.1016/B978-0-12-179730-0.50010-2.

WU, J.; JOERGENSEN, R.G.; POMMERENING, B.; CHAUSSOD, R.; BROOKES, P.C. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction: an automated procedure. **Soil Biology and Biochemistry**, v.22, p.1167-1169, 1990. DOI: 10.1016/0038-0717(90)90046-3.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inclusão de parâmetros relacionados ao funcionamento da maquinaria biológica do solo é fundamental para acessar a qualidade dos solos sob diferentes práticas de manejo agrícola (Zuber & Villamil, 2016, Mendes et al., 2015).

A grande dificuldade na inclusão dos parâmetros microbiológicos nas análises de rotina de solo residia exatamente na dificuldade de interpretar os valores individuais desses parâmetros.

Com o advento da primeira estratégia de interpretação de bioindicadores, proposta por Lopes et al. (2013), e com o lançamento das primeiras tabelas de interpretação para bioindicadores, a possibilidade da inclusão dos parâmetros biológicos nas análises de solo começou a se concretizar.

Nesta tese de doutorado, foram avaliadas as possibilidades de unificação das épocas de amostragem no campo e dos processos de pré-tratamento das amostras (secagem à temperatura ambiente e peneiramento) para avaliações de microbiologia e fertilidade de solo, gerando a amostra FERTBIO. Verificou-se que houve reduções significativas nos valores absolutos da maioria dos parâmetros avaliados (exceção, urease) quando a amostragem foi feita na fase de pós-colheita, após secagem do solo ao ar. Mesmo assim, nos Latossolos argilosos de Cerrado, sob culturas anuais de grãos, as relações do CBM,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida, arilsulfatase, desidrogenase, fosfatase alcalina e urease com o COS e com o rendimento acumulado de grãos se mantiveram. Dessa forma, foi possível gerar tabelas de interpretação específicas, para a amostragem pós-colheita/solo seco, para esses indicadores microbiológicos.

Além disso, foi desenvolvida a segunda aproximação da tabela de interpretação do CBM,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida, arilsulfatase, para a fase de floração/solo úmido, com dados coletados durante dois anos de amostragens (2013 e 2015). Como a geração das primeiras tabelas de interpretação dos bioindicadores para os Latossolos da região do Cerrado foi feita com dados coletados apenas em um ano de observação, ficou evidente a importância da continuidade desses estudos, uma vez que parâmetros microbiológicos, com alta variação ao longo do tempo, poderiam comprometer o uso dessas tabelas. Cabe destacar que a variabilidade anual é diferente da variação sazonal, relacionada a diferentes estações em um mesmo ano. Dessa forma, todos os trabalhos conduzidos nesta tese envolveram amostragens realizadas em dois anos distintos; 2013 e 2015, de tal forma que as tabelas aqui desenvolvidas incorporam fatores relacionados à variabilidade anual, contribuindo para maior robustez. A contribuição do fator ano na variância dos indicadores microbiológicos foi quantificada tanto para as amostragens realizadas na fase de floração/solo úmido, como para as amostragens feitas na fase de pós-colheita/solo seco. Observou-se uma baixa variabilidade anual das enzimas arilsulfatase e  $\beta$ -glicosidase (capítulo 1), bem como do CBM e da desidrogenase (capítulo 2) tanto na floração como na pós-colheita. No caso específico das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase, essas características, aliadas aos estudos que comprovam sua eficácia no monitoramento de áreas agrícolas, corroboram a adoção desses bioindicadores em análises comerciais de solo como parâmetros indicadores do seu biofuncionamento.

Como linha de pesquisas futuras, permanece a necessidade de ampliação das tabelas de interpretação dos bioindicadores para outras regiões com condições

edafoclimáticas distintas das avaliadas no presente estudo (Latosolos argilosos da região do Cerrado). O estreitamento da amplitude entre as classes de interpretação, observado nas tabelas que usaram o conceito FERTBIO, pode representar uma desvantagem no uso da amostra FERTBIO (uma vez que os limites entre as classes ficam mais próximos). Assim, estudos futuros também deverão validar esse novo conceito com amostras coletadas em nível de fazendas.

Além de estabelecer os valores de referência para os bioindicadores nos Latossolos Vermelhos de Cerrado, o objetivo dessas tabelas interpretativas é o de fornecer informações sobre a eficácia dos sistemas de produção e/ou práticas de uso da terra e de seus impactos sobre a qualidade do solo. Por exemplo, um valor de teste “baixo” para os indicadores microbianos pode ser uma indicação de que práticas de manejo inadequadas estejam sendo utilizadas. Para cada bioindicador, esses limites críticos também podem ser entendidos como os valores desejáveis que devem ser mantidos para o funcionamento normal do solo.

Para que os bioindicadores possam fazer parte de um conjunto de atributos rotineiros de análises de solo, além de boa precisão, sensibilidade e coerência, é preciso que eles também sejam determinados através de metodologias que sejam práticas, demandem pouca mão de obra e sejam de preço acessível. Por isso, são necessários estudos como o do capítulo 3, onde foi avaliada a adoção de aparelhos que automatizem e padronizem as análises do carbono da biomassa microbiana.

Finalmente, os resultados obtidos nesta tese, reforçam as chances de que, em um futuro próximo, além dos atributos químicos e físicos, determinações das propriedades microbiológicas poderão também fazer parte das rotinas de análises de solo e de índices de qualidade de solo no Brasil.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LOPES, A.A.C.; SOUSA, D.M.G.; CHAER, G.M.; REIS JUNIOR, F.B.; GOEDERT, W.J.; MENDES, I.C. Interpretation of Microbial Soil Indicators as a Function of Crop Yield and Organic Carbon. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p.461 - 472, 2013.

MENDES, I.C.; SOUSA, D.M.G.; REIS JUNIOR, F.B.; Bioindicadores de Qualidade do Solo: Dos laboratórios de pesquisa para campo. **Caderno de ciência & tecnologia**, Brasília v.32, p.191 - 209, 2015.

ZUBER, S.M.; VILLAMIL, M.B.; Meta-analysis approach to assess effect of tillage on microbial biomass and enzyme activities, **Soil Biology & Biochemistry**, v.97, p.176 – 187, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.03.011>

## **ANEXOS**

## ANEXO A: DETALHAMENTO DOS EXPERIMENTOS ANALISADOS

O solo do experimento I possui textura muito argilosa. Esse experimento foi instalado em 1994 com o objetivo principal de avaliação agronômica de fontes (superfosfato triplo granulado, fosfato natural de GAFSA, fosfato natural ARAD parcialmente acidulado), modos de aplicação (lanço ou em sulco de plantio) e diferentes doses de fósforo no solo. O delineamento experimental utilizado é de blocos casualizados com três repetições, em sistema de plantio direto e de preparo convencional. As parcelas experimentais possuem 8 m x 4 m, com espaçamento entre linhas de 50 cm, 80 cm e 20 cm, para soja (*Glycine max*), milho (*Zea mays*) e milheto (*Pennisetum glaucum*), respectivamente. A área foi desmatada no ano de 1976, permanecendo sem uso agrícola até o ano de 1985, quando foi novamente desmatada e cultivada com espécies de adubos verdes por três anos (mucuna-preta, guandu e crotalária). A área permaneceu novamente sem cultivo até o ano de 1994, quando foi estabelecido o experimento. A análise química e granulométrica antes da implantação do experimento é apresentada na tabela A.1. A correção dos níveis de acidez e fertilidade foi feita de acordo com as recomendações de Sousa & Lobato (2004), visando o alto rendimento de grãos. Cultivou-se soja do ano de 1994 até a safra de 2002/2003 sem a utilização de plantas de cobertura. No ano de 2003/2004 cultivou-se milheto como planta de cobertura, repetindo o cultivo nos anos seguintes, cultivando-se o milho (2004/2005) e a partir desse cultivo a sucessão milho/soja.

**Tabela A.1** - Análises químicas e granulométricas do solo das três áreas experimentais, na camada de 0 a 20 cm, antes da implantação dos experimentos.

Experimentos	pH	H+Al	Ca+Mg	Al <sub>3</sub> <sup>+</sup>	P	K	MOS	Argila	Areia	Silte
	H <sub>2</sub> O	-----	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	-----	--	mg dm <sup>-3</sup>	--	----- (g kg <sup>-1</sup> ) -----		
I	5,4	5,27	4,42	0,08	1,0	43,5	28	640	270	90
II	5,4	3,66	4,54	0,00	10,5	58,0	23	571	357	72
III	4,5	8,10	0,40	1,40	1,2	40,0	28	540	410	50

O solo do experimento II possui textura argilosa. O experimento foi instalado em 1999 com o objetivo de avaliação de fontes (superfosfato triplo e fosfato natural reativo), modos (lanço e no sulco de plantio) e doses de aplicação de P (0, 50 e 100 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>) em área de elevada fertilidade (10,0 mg dm<sup>-3</sup> de P - Mehlich 1, na camada de 0 a 20 cm). O delineamento experimental utilizado é de blocos ao acaso em parcelas divididas, sendo que, nas parcelas, são distribuídos aleatoriamente três sistemas de manejo: sistema de preparo convencional, constituído de uma aração e uma gradagem, realizadas imediatamente antes do plantio, tendo o milheto (*Pennisetum glaucum*) como planta de cobertura (SPC milheto), sistema plantio direto com milheto (SPD milheto) e sistema plantio direto com mucuna (*Mucuna aterrima*) (SPD mucuna). Nas subparcelas, são aplicados os tratamentos de adubação fosfatada. Estas possuem área de 11 m x 4,5 m com espaçamento entre linhas de 0,45 m para soja, 0,75 m para o milho, 0,20 m para o milheto e 0,60 m para a mucuna. A área foi convertida para o uso agrícola no ano de 1976, sendo utilizada para pastagem e produção de grãos por 20 anos. No ano de 1996, a área foi novamente preparada e foram realizadas as análises químicas e granulométrica antes da implantação do experimento (Tabela A.1). A correção dos níveis de acidez e fertilidade foi feita de acordo com as recomendações de Sousa & Lobato (2004), visando o alto rendimento de grãos. Cultivou-se soja nos anos de 1996/1997 e 1997/1998, no ano de 1998/1999 cultivou-se milho, e a partir do ano 1999/2000 o experimento foi iniciado, adotando-se a sucessão soja-milho com plantas de cobertura no inverno.

O solo do experimento III possui textura argilosa. Este experimento foi instalado em 1999 e tem como objetivo principal a avaliação agrônômica de três fontes de fósforo (superfosfato triplo granulado – STg, fosfato natural reativo – FNR e mistura na proporção 1:1 de superfosfato triplo microgranulado com fosfato natural reativo – STmg + FNR), aplicadas na dose de 80 kg ha<sup>-1</sup> em dois modos de aplicação (lanço na superfície do solo e sulco de semeadura) e em três condições iniciais de P no solo (condição natural, corrigido com FNR e com STg, na dose de 240 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> total), adotando-se o sistema de plantio direto como sistema de preparo. O delineamento experimental é de blocos ao acaso, com três repetições e com estrutura fatorial completa. As parcelas possuem 11 m x 4,5 m, com

espaçamento entre linhas de 0,45 m para soja, 0,75 m para o milho e 0,20 m para o milheto. A área foi convertida para o uso agrícola em 1976, permanecendo sob vegetação espontânea até o ano de 1999. Neste ano foram realizadas as análises químicas e granulométrica antes da implantação do experimento (Tabela A.1), e em seguida a correção dos níveis de acidez e fertilidade de acordo com Sousa & Lobato (2004). Cultivou-se soja nos dois primeiros anos (1999/2000 e 2000/2001), iniciando a sucessão soja-milho no ano de 2001/2002, utilizando-se o milheto como planta de cobertura de inverno.

**Tabela A.2** - Mineralogia<sup>1</sup> do solo, na camada de 40 a 60 cm, antes da implantação dos experimentos (Nunes, 2014).

Caulinita	Gibbsite	Goethita	Hematita	Anatase
----- g kg <sup>-1</sup> -----				
634	195	61	108	17

<sup>1</sup>Calculado a partir dos teores de Si, Al, Fe, e Ti após digestão da argila com ácido fluorídrico em micro-ondas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

NUNES, R.S. **Eficiência de uso do fósforo em sistemas de manejo do solo e adubação fosfatada por um longo período.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Tese de Doutorado, 150 p., 2014.

SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E.; REIN, T.A. Adubação com fósforo. In: SOUSA, D.M.G., LOBATO, E. (Eds.) **Cerrado: correção do solo e adubação.** 2.ed. Planaltina: Embrapa Informação Tecnológica, p.147-168, 2004.



## ANEXO B: UMIDADE DAS AMOSTRAS

**Tabela B.1** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de floração/solo úmido.

Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	29,53	10	2	32,61	19	3	29,11
1	2	30,67	10	3	31,57	20	1	24,70
1	3	29,83	11	1	28,84	20	2	26,18
2	1	29,75	11	2	30,43	20	3	27,14
2	2	29,72	11	3	31,64	21	1	31,03
2	3	29,93	12	1	29,63	21	2	28,75
3	1	30,69	12	2	30,79	21	3	29,34
3	2	31,00	12	3	28,74	22	1	25,24
3	3	29,26	13	1	29,32	22	2	27,47
4	1	30,22	13	2	31,46	22	3	27,24
4	2	29,31	13	3	32,59	23	1	32,21
4	3	30,32	14	1	28,90	23	2	30,78
5	1	30,84	14	2	31,22	23	3	33,44
5	2	31,07	14	3	30,86	24	1	32,18
5	3	31,39	15	1	28,92	24	2	30,87
6	1	34,23	15	2	28,48	24	3	30,71
6	2	34,58	15	3	28,46	1Cer	1	34,49
6	3	34,38	16	1	28,24	1Cer	2	35,91
7	1	36,02	16	2	31,30	1Cer	3	33,94
7	2	32,24	16	3	30,35	2Cer	1	34,33
7	3	33,86	17	1	28,42	2Cer	2	33,95
8	1	30,39	17	2	33,10	2Cer	3	32,90
8	2	32,15	17	3	33,27	3Cer	1	35,64
8	3	30,95	18	1	25,50	3Cer	2	36,41
9	1	28,40	18	2	23,63	3Cer	3	32,53
9	2	29,86	18	3	25,75	4Cer	1	34,15
9	3	29,81	19	1	25,38	4Cer	2	35,65
10	1	30,16	19	2	29,72	4Cer	3	53,26

<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

**Tabela B.2** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de floração/solo úmido.

Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	29,94	10	2	30,06	19	3	32,45
1	2	30,86	10	3	30,20	20	1	26,05
1	3	21,84	11	1	29,49	20	2	27,42
2	1	31,28	11	2	30,70	20	3	28,64
2	2	30,68	11	3	32,74	21	1	29,68
2	3	31,06	12	1	32,46	21	2	29,68
3	1	31,06	12	2	32,19	21	3	32,19
3	2	31,36	12	3	31,00	22	1	29,30
3	3	30,85	13	1	32,79	22	2	30,43
4	1	31,53	13	2	34,50	22	3	29,89
4	2	31,05	13	3	33,03	23	1	31,08
4	3	30,20	14	1	28,99	23	2	30,93
5	1	30,43	14	2	31,07	23	3	32,80
5	2	31,20	14	3	34,77	24	1	29,13
5	3	31,01	15	1	30,15	24	2	30,96
6	1	32,75	15	2	30,56	24	3	31,29
6	2	34,17	15	3	31,03	1Cer	1	31,92
6	3	27,10	16	1	30,58	1Cer	2	34,05
7	1	32,31	16	2	30,17	1Cer	3	31,65
7	2	33,61	16	3	0,00	2Cer	1	26,60
7	3	34,06	17	1	29,65	2Cer	2	31,71
8	1	32,28	17	2	33,03	2Cer	3	31,76
8	2	31,17	17	3	34,19	3Cer	1	33,10
8	3	32,37	18	1	26,97	3Cer	2	35,40
9	1	27,77	18	2	25,21	3Cer	3	33,32
9	2	28,68	18	3	26,61	4Cer	1	34,39
9	3	29,09	19	1	27,49	4Cer	2	34,54
10	1	25,80	19	2	29,90	4Cer	3	34,94

<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

**Tabela B.3** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de pós-colheita/solo úmido.

Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	20,72	10	2	24,56	19	3	23,43
1	2	21,61	10	3	23,48	20	1	16,84
1	3	19,68	11	1	22,06	20	2	17,86
2	1	22,11	11	2	23,90	20	3	16,19
2	2	21,12	11	3	26,30	21	1	25,75
2	3	19,85	12	1	23,11	21	2	24,48
3	1	21,38	12	2	24,47	21	3	24,82
3	2	21,50	12	3	23,06	22	1	22,93
3	3	21,74	13	1	24,36	22	2	22,55
4	1	22,04	13	2	26,13	22	3	21,51
4	2	20,71	13	3	26,47	23	1	22,77
4	3	22,25	14	1	23,38	23	2	23,21
5	1	22,65	14	2	26,43	23	3	22,72
5	2	21,30	14	3	26,05	24	1	23,62
5	3	20,84	15	1	22,41	24	2	22,19
6	1	28,26	15	2	20,86	24	3	25,73
6	2	30,49	15	3	19,61	1Cer	1	20,53
6	3	28,88	16	1	24,31	1Cer	2	19,93
7	1	24,62	16	2	24,69	1Cer	3	20,51
7	2	30,50	16	3	25,18	2Cer	1	22,78
7	3	29,83	17	1	24,42	2Cer	2	20,26
8	1	28,61	17	2	26,14	2Cer	3	23,54
8	2	29,27	17	3	24,42	3Cer	1	25,55
8	3	28,66	18	1	16,14	3Cer	2	27,00
9	1	17,70	18	2	14,92	3Cer	3	23,61
9	2	20,46	18	3	16,51	4Cer	1	26,45
9	3	20,87	19	1	22,04	4Cer	2	24,74
10	1	23,65	19	2	24,88	4Cer	3	26,33

<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

**Tabela B.4** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de pós-colheita/solo úmido.

Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	14,25	10	2	20,94	19	3	22,40
1	2	17,44	10	3	21,44	20	1	15,20
1	3	17,42	11	1	17,84	20	2	16,11
2	1	16,81	11	2	20,82	20	3	16,06
2	2	17,18	11	3	22,43	21	1	22,15
2	3	17,32	12	1	17,44	21	2	20,03
3	1	16,97	12	2	18,26	21	3	23,15
3	2	17,06	12	3	17,27	22	1	20,19
3	3	17,05	13	1	20,24	22	2	20,90
4	1	17,12	13	2	21,17	22	3	19,72
4	2	16,89	13	3	22,79	23	1	21,77
4	3	17,62	14	1	19,60	23	2	21,84
5	1	15,66	14	2	21,52	23	3	21,15
5	2	17,63	14	3	22,77	24	1	21,11
5	3	17,24	15	1	16,80	24	2	20,54
6	1	18,90	15	2	16,74	24	3	21,64
6	2	20,29	15	3	17,79	1Cer	1	20,08
6	3	20,14	16	1	18,39	1Cer	2	24,02
7	1	17,63	16	2	18,00	1Cer	3	23,47
7	2	19,72	16	3	18,39	2Cer	1	21,30
7	3	20,22	17	1	17,86	2Cer	2	22,34
8	1	24,08	17	2	20,14	2Cer	3	21,60
8	2	23,30	17	3	19,92	3Cer	1	28,08
8	3	23,12	18	1	15,58	3Cer	2	26,34
9	1	16,51	18	2	14,53	3Cer	3	27,26
9	2	18,07	18	3	13,84	4Cer	1	26,82
9	3	18,76	19	1	19,49	4Cer	2	25,99
10	1	18,83	19	2	21,24	4Cer	3	26,81

<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

**Tabela B.5** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de pós-colheita/solo úmido, após a secagem ao ar (pós-colheita/solo seco).

Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	2,48	10	2	2,57	19	3	2,17
1	2	2,81	10	3	2,17	20	1	1,94
1	3	2,05	11	1	2,31	20	2	2,30
2	1	2,28	11	2	2,36	20	3	2,06
2	2	2,73	11	3	2,19	21	1	4,35
2	3	2,70	12	1	2,25	21	2	2,30
3	1	0,32	12	2	3,91	21	3	2,80
3	2	2,61	12	3	2,14	22	1	2,95
3	3	2,29	13	1	2,35	22	2	2,21
4	1	3,82	13	2	3,16	22	3	2,27
4	2	3,16	13	3	2,23	23	1	5,54
4	3	2,15	14	1	2,55	23	2	3,14
5	1	3,14	14	2	2,87	23	3	2,79
5	2	2,38	14	3	2,82	24	1	3,36
5	3	2,41	15	1	2,20	24	2	2,13
6	1	4,22	15	2	3,47	24	3	2,31
6	2	3,22	15	3	2,75	1Cer	1	2,55
6	3	4,46	16	1	4,28	1Cer	2	2,72
7	1	2,26	16	2	3,20	1Cer	3	2,52
7	2	3,63	16	3	3,78	2Cer	1	2,25
7	3	2,27	17	1	5,02	2Cer	2	2,57
8	1	2,22	17	2	2,88	2Cer	3	2,42
8	2	2,81	17	3	2,45	3Cer	1	3,35
8	3	2,45	18	1	1,98	3Cer	2	3,17
9	1	2,14	18	2	2,20	3Cer	3	3,11
9	2	2,44	18	3	2,34	4Cer	1	5,81
9	3	2,18	19	1	2,21	4Cer	2	2,93
10	1	2,63	19	2	2,08	4Cer	3	3,35

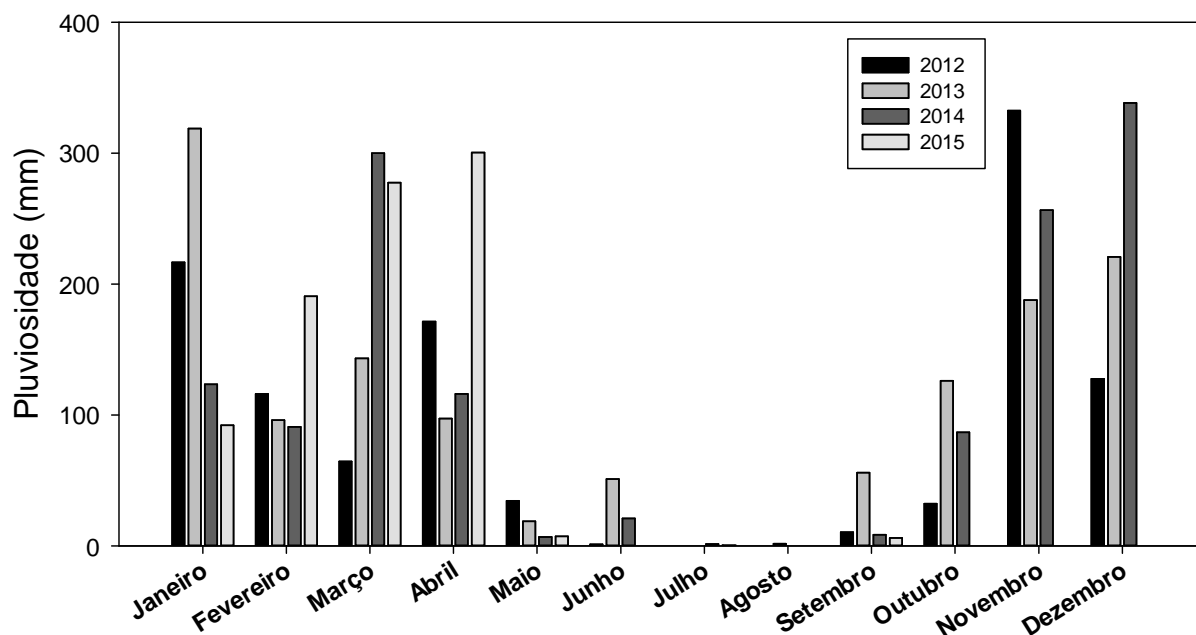
<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

**Tabela B.6** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de pós-colheita/solo úmido, após a secagem ao ar (pós-colheita/solo seco).

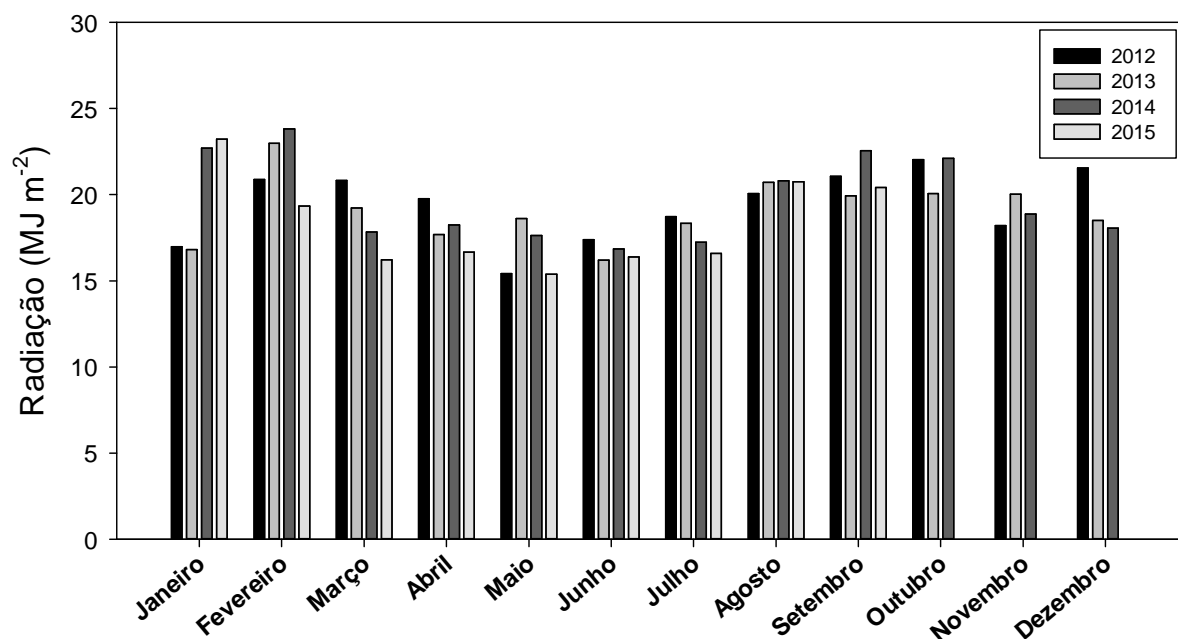
Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	6,31	10	2	10,48	19	3	6,90
1	2	4,83	10	3	8,68	20	1	4,62
1	3	4,86	11	1	7,62	20	2	7,83
2	1	4,54	11	2	7,05	20	3	4,00
2	2	7,13	11	3	11,08	21	1	6,59
2	3	6,28	12	1	7,40	21	2	9,42
3	1	6,34	12	2	10,47	21	3	10,61
3	2	5,79	12	3	5,70	22	1	8,83
3	3	6,00	13	1	6,53	22	2	7,35
4	1	6,56	13	2	8,69	22	3	29,04
4	2	7,53	13	3	6,48	23	1	6,32
4	3	7,95	14	1	8,97	23	2	7,79
5	1	5,52	14	2	7,49	23	3	10,44
5	2	7,87	14	3	8,74	24	1	13,23
5	3	7,37	15	1	5,27	24	2	12,29
6	1	7,53	15	2	2,64	24	3	9,15
6	2	7,01	15	3	4,41	1Cer	1	6,52
6	3	7,33	16	1	7,01	1Cer	2	9,20
7	1	4,05	16	2	6,50	1Cer	3	11,47
7	2	7,01	16	3	3,98	2Cer	1	9,92
7	3	6,46	17	1	6,81	2Cer	2	12,16
8	1	0,00	17	2	9,50	2Cer	3	6,49
8	2	11,68	17	3	6,41	3Cer	1	13,64
8	3	8,92	18	1	6,81	3Cer	2	8,90
9	1	6,43	18	2	4,78	3Cer	3	9,14
9	2	8,91	18	3	4,66	4Cer	1	11,56
9	3	9,69	19	1	6,76	4Cer	2	11,01
10	1	9,42	19	2	7,44	4Cer	3	11,79

<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

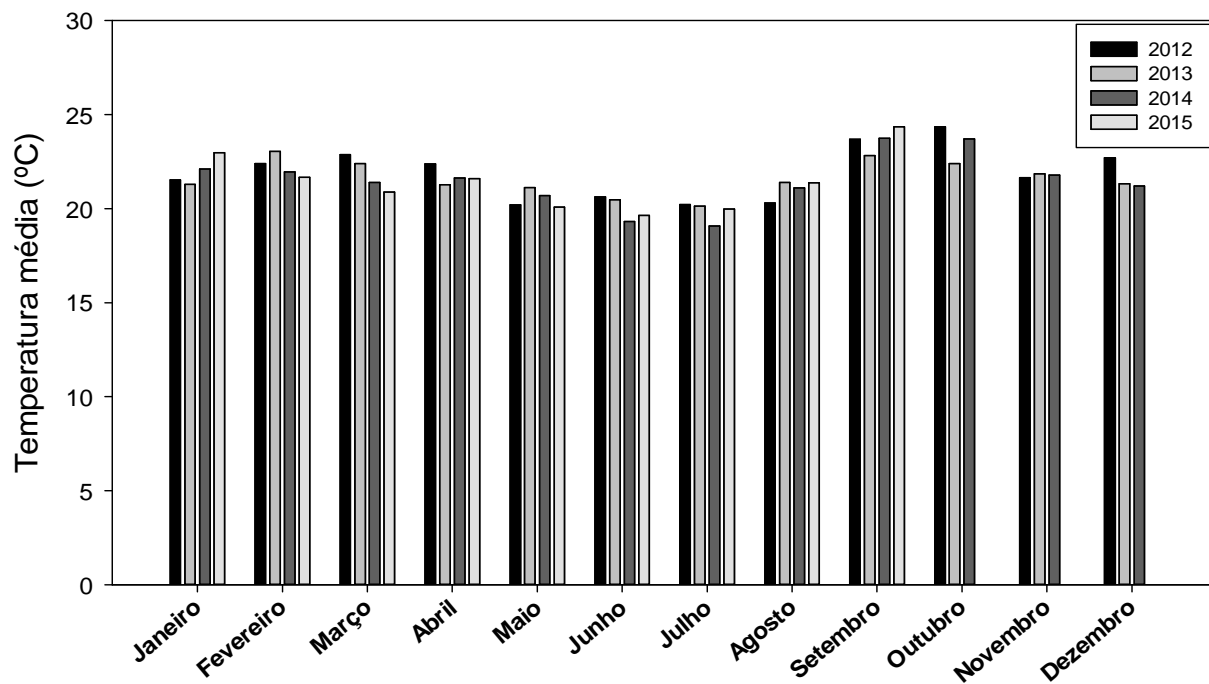
## ANEXO C: DADOS METEREOLÓGICOS



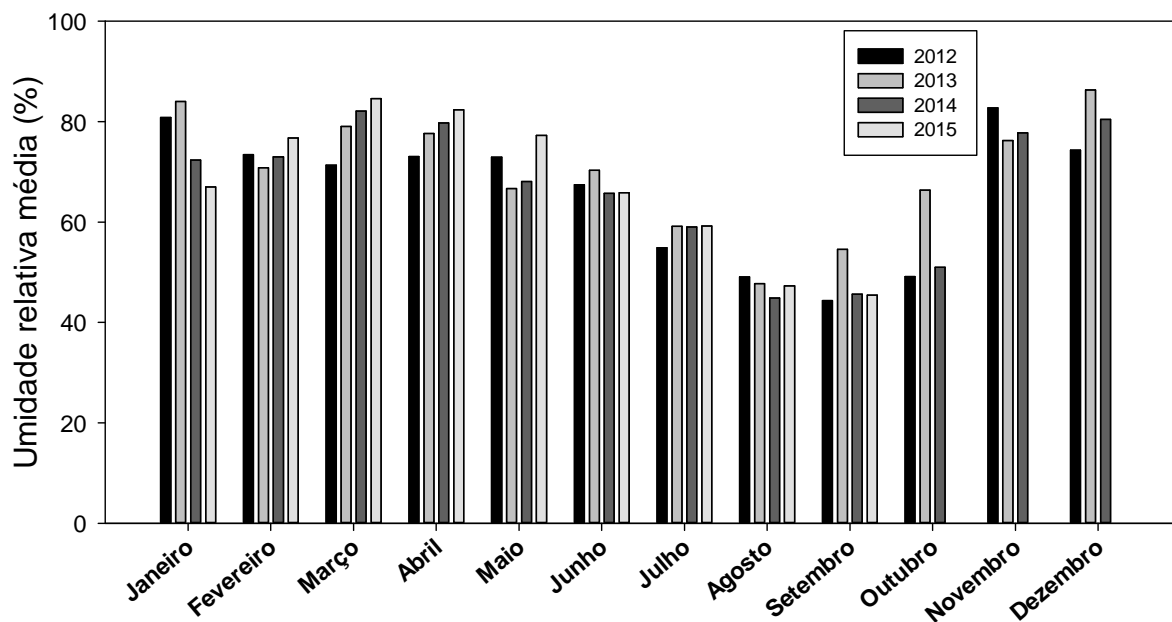
**Figura C.1** - Pluviosidade mensal acumulada observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).



**Figura C.2** - Radiação mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).



**Figura C.3** - Temperatura mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).



**Figura C.4** - Umidade relativa mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).