**MICROBIOTA E SUA ATIVIDADE EM UMA
CRONOSSEQUÊNCIA SOB SISTEMA PLANTIO DIRETO**

SOLISMAR DE PAIVA VENZKE FILHO

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Dra. **BRIGITTE JOSEFINE FEIGL**

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz, Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de mestre
em Agronomia, Área de Concentração:
Microbiologia Agrícola.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Abril- 1999

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Venzke Filho, Solismar de Paiva

Microbiologia e sua atividade em uma cronossequência sob sistema plantio direto /
Solismar de Paiva Venzke Filho. - - Piracicaba, 1999.
65 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1999.
Bibliografia.

1. Biomassa microbiana do solo 2. Colonização 3. Flora microbiana 4. Fungo
micorrízico 5. Microrganismo do solo 6. Nodulação 7. Plantio direto I. Título

CDD 631.5

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - O Autor"

Aos meus pais

Solismar de Paiva Venzke (*in memoriam*)

&

Jacy da Silva Venzke (*in memoriam*)

OFEREÇO

Aos Amigos

em especial,

Prof. Dr. Danilo Dufech Castilho (UFPel)

&

Prof. Dr. Mário Massayuki Inomoto (ESALQ/USP)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Dra. Brigitte Josefine Feigl e o Prof. Dr. Carlos Clemente Cerri pela orientação e amizade. Meu muito obrigado!

Aos colegas João Carlos de Moraes Sá e Márcia Freire Sá pela oportunidade oferecida de trabalharmos juntos na Fazenda Santa Branca.

Ao Sr. Lúcio Miranda, pela abertura das porteiras da Fazenda Santa Branca para realização desse trabalho. E, os funcionários, em especial ao Eng. Agrônomo Jorge Ferreira e o Sr. Milton Banisk.

Aos amigos do Laboratório de Biogeoquímica do solo (CENA/USP), Dra. Marisa Piccolo, Sandra Nicolete, Mara Piacentini, José Roberto Martins, Sr. Dacir Bortoleto, pela amizade e o sorriso de cada manhã.... Agradeço de coração!

Às estagiárias Andreia e Juliana pela aquela “força”.

Aos colegas da sala de Pós-Graduação do Lab. Biogeoquímica com quem convivi por três anos em bate-papo, não virtual, agradeço pela amizade e pela troca de experiência adquirida a cada dia. São eles: Paulo Maurício de A. Graças, Marciano Brito, Martial Bernoux, Dinailson Campos, Maria da Conceição Carvalho, Silvana Fernandes, Edgar de Luca.

Aos Pesquisadores da IRD/ORSTOM, Frederique e Patrick Seyler, Vincent Echenbrenner, Christian Feller, e Vincent Chaplot pela amizade e companhia.

À amiga baiana Maria da Conceição Santana Carvalho pela preciosa ajuda na análise estatística dos resultados.

À Profa. Dra. Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso e os competentes técnicos de laboratório Denise Mescolotti e Fernando Baldesin pela realização das análises de

quantificação dos microrganismos no laboratório de microbiologia do Depto de Ciência do Solo - ESALQ/USP.

Aos Professores Dr. Takashi Muraoka e Dra.Regina Monteiro (CENA/USP) pela valiosa ajuda e sugestão dada a esse trabalho.

À amiga, pesquisadora e conselheira Dra Siu Mui Tsai pela oportunidade de ser monitor de sua disciplina “Ecologia Experimental de Microrganismo – CEN 5734”.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) pelo apoio logístico.

À Capes pela concessão da bolsa de estudo.

Ao ex-coordenador do curso de Microbiologia Agrícola Prof. Dr. Luiz Gonzaga do Prado Filho pela amizade e orientação recebida.

À turma da república Professor Doutor, Samuel da Silva, Mário Inomoto (fundador), Vicente Martelo, Remi Dâmbros, Maurício De Leon, Leonel Vasco, João Flávio Veloso, Eduardo de Armas, pelo convívio e pelas Brahmas, Antarctica, Skol, e outros pêlos.

À Vera Lúcia Castro pelas sugestões na elaboração desta.

À todos aqueles que, de uma maneira ou outra, prestaram o seu apoio e incentivo para a realização desse trabalho. Meu muito obrigado!.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	vii
SUMMARY	ix
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Sistema plantio direto	4
2.2 Sistema plantio direto e a microbiota do solo	5
3 A BIOMASSA MICROBIANA E SUA ATIVIDADE EM UMA CRONOSSEQUÊNCIA SOB SISTEMA PLANTIO DIRETO	10
RESUMO	10
SUMMARY	11
3.1 INTRODUÇÃO	12
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	14
3.2.1 Localização das áreas amostradas	14
3.2.2 Caracterização edafo-climática da área	15
3.2.3 Histórico das áreas	15
3.2.4 Época e plano de amostragem no campo	18
3.2.5 Preparo das amostras de solo	18
3.2.6 Delineamento experimental	19
3.2.7 Análises químicas	19
3.2.7.1 pH do solo em CaCl ₂	19
3.2.7.2 Nitrogênio mineral	19
3.2.7.3 Carbono total do solo	19
3.2.7.4 Nitrogênio total do solo	19
3.2.7.5 Relação carbono : nitrogênio do solo	20
3.2.8 Análises microbiológicas	20
3.2.8.1 Biomassa microbiana do solo	20
3.2.8.2 Respiração basal	20
3.2.8.3 Quociente metabólico	20
3.2.8.4 Relação biomassa microbiana – C : carbono total	21

3.2.8.5 Relação biomassa microbiana – N : nitrogênio total	21
3.2.8.6 Relação biomassa microbiana – C : biomassa microbiana – N	21
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
3.3.1 Alterações do pH e os teores de C e N do solo	22
3.3.2 O comportamento da biomassa microbiana	25
3.3.3 A atividade da biomassa microbiana	33
3.4 CONCLUSÃO	35
4 QUANTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA, AVALIAÇÃO COLONIZAÇÃO POR FUNGOS MICORRÍZICOS E NODULAÇÃO EM UMA CRONOSSEQUÊNCIA SOB SISTEMA PLANTIO DIRETO	36
RESUMO	36
SUMMARY	37
4.1 INTRODUÇÃO	37
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	39
4.2.1 Áreas de estudo	39
4.2.2 Experimento em casa de vegetação	40
4.2.3 Delineamento experimental	40
4.2.4 Análises microbiológicas	41
4.2.4.1 Quantificação das bactérias e dos fungos	41
4.2.4.2 Quantificação dos microrganismos amonificadores	42
4.2.4.3 Quantificação dos microrganismos nitrificadores	42
4.2.4.4 Quantificação da porcentagem de colonização dos fungos micorrízicos arbusculares	42
4.2.4.5 Quantificação do número e massa seca dos nódulos	43
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.4 CONCLUSÃO	52
5. CONCLUSÃO GERAL	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

MICROBIOTA E SUA ATIVIDADE EM UMA CRONOSSEQUÊNCIA SOB SISTEMA PLANTIO DIRETO

AUTOR: Solismar de Paiva Venzke Filho
ORIENTADOR: DRA. Brigitte Josefine Feigl

RESUMO

O efeito do tempo de adoção do sistema plantio direto [SPD] sobre a microbiota do solo e sua atividade foi avaliado em um latossolo, no município Tibagi, PR. As áreas estudadas constituíam uma cronossequência formada por um campo nativo [CAN], uma área de preparo convencional sobre o campo nativo [PCN] e duas áreas em SPD, uma área cultivada desde 1989 [PD10] e outra desde de 1979 [PD20] no SPD. O C-total, o N-total, e o N-amoniaco foram maiores no PCN, provavelmente devido ao efeito da decomposição da vegetação nativa incorporada ao solo durante o preparo convencional. O C-total no PD20 foi semelhante ao C-total no CAN, sugerindo que um longo período de SPD restaura o nível original de C do solo. A biomassa microbiana-C [BMC] diminuiu na cronossequência, principalmente nas duas camadas superficiais, na ordem de 36 e 57% na camada 0-2,5 cm e 49 e 56% na camada 2,5-5,0 cm para PD10 e PD20, respectivamente. A biomassa microbiana-N [BMN] não apresentou diferenças estatísticas entre os tratamentos CAN, PD10 e PD20 na camada 0-2,5 cm, porém nas camadas subjacentes o PD10 e o PD20 apresentaram diminuição significativas em relação ao CAN e PCN. A relação $C_{mic}:N_{mic}$ da camada 0-2,5 cm diminuiu na cronossequência de 4,30 no CAN para 2,03 no PD20. Essa relação aumentou mais acentuadamente na profundidade do PD20 que nos demais tratamentos. O quociente metabólico [qCO_2] e a respiração basal aumentaram na cronossequência em até 507% e 240% respectivamente na camada 0-2,5 cm. A relação $C_{mic}:C_{total}$, a relação $N_{mic}:N_{total}$ e a relação $C_{solo}:N_{solo}$ diminuíram na

cronossequência. A população bacteriana e fúngica, além dos microrganismos amonificadores e nitrificadores, não demonstraram alterações com o tempo de adoção do SPD. Os fungos e os microrganismos nitrificadores demonstraram aumento com o início da exploração da terra. A porcentagem de colonização de raízes por fungos micorrízicos arbusculares e a nodulação foram beneficiadas com o tempo de adoção do SPD. A colonização das raízes do milho e das raízes da soja aumentaram de 23% e 18% no CAN para 66% e 55% no PD20, respectivamente. Conclui-se que o tempo de adoção do sistema plantio direto teve efeito na microbiota e na sua atividade. A diminuição da BMC e a menor relação $C_{mic}:N_{mic}$ são fortes indicadores de que tenham ocorrido mudanças na composição da microbiota do solo. Entretanto, não foi possível observar o efeito do SPD sobre o número de bactérias, fungos, amonificadores, nitrificadores e nitratores por meio das técnicas empregadas. O SPD favorece a colonização dos fungos micorrízicos arbusculares e a nodulação com o decorrer do tempo de adoção.

MICROBIAL BIOMASS AND ITS ACTIVITY IN A NO-TILLAGE CHRONOSEQUENCE

AUTHOR: Solismar de Paiva Venzke Filho
ADVISER: DRA. Brigitte Josefine Feigl

SUMMARY

The effects of long-term applying no-tillage system [NT] on soil microbial biomass [BM] and its activity were evaluated in 1997, in a Latosol soil, Tibagi, Paraná State, Brazil. The studied area comprise a chronosequence of: 1) an area covered with the native vegetation [NV], 2) an area cultivated for 1 year under conventional tillage over the native vegetation [CT], 3) an area cultivated since 1989 under NT [NT10], and 4) an area cultivated since 1979 under NT [NT20]. Total-C, total-N and ammonium-N were greater under CT, probably due to the decomposition of the native vegetation after tillage. Total-C under NT20 was similar to total-C under NV, suggesting that long-duration NT restores the original level of C of soil. Microbial biomass-C [MBC] decreased in the chronosequence, mainly in the superficial layers in the order of 36 and 57% in the 0-2,5 cm layer and 49 and 56% in the 2,5-5,0 cm 2,5-5,0 cm layer for PD10 and PD20, respectively. The Microbial biomass-N [MBN] of 0-2.5 cm layer under NV, NT10, and NT20 did not show differences, but MBN of the other layers under NT10 and NT20 were lower than MBN under NV and CT. The $C_{mic}:N_{mic}$ ratio of the 0-2,5 cm layer decreased in the chronossequence from 4,30 in VN to 2,03 in PD20. The NT20 showed a more accentuated increase of this ratio in the lower the depths than the other treatments. The metabolic quotient [qCO_2] and basal respiration in 0-2.5 cm layer increased in the chronosequence in up to 507% and 240% respectively in the 0-2,5 cm layer. The $C_{mic}:C_{total}$ ratio, $N_{mic}:N_{total}$ ratio

and $C_{\text{soil}}:N_{\text{soil}}$ decreased in the chronosequence. and the lower $N_{\text{mic}}:N_{\text{total}}$ rate was observed under NT20. The $C_{\text{mic}}:N_{\text{mic}}$ rate in the 0-2.5 cm layer decreased in the chronosequence. The fungal and bacterial population, the microorganisms responsible for the ammonification, as well as the ammonium-oxidizing and nitrite-oxidizing microorganisms did not show quantitative changes in the long-term applying the NT. The ammonium-oxidizing, nitrite-oxidizing and fungi populations revealed quantitative changes due to the beginning of exploitation. Root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi and nodulation increased in the long-term applying the NT. Corn and soybean root colonization increased from 18% and 22% on VN to 66% and 55% on NT20, respectively. It seems apparent that the duration of application of the no-tillage system affected microbial biomass and its activity. Decrease of BMC as well as a lower $C_{\text{mic}}:N_{\text{mic}}$ ratio are strong indicative of possible changes in the composition of the BM. However, it was not possible to observe the effect of NT on the bacterial and fungi population, N-organic-oxidizing, ammonium-oxidizing and nitrite-oxidizing microorganism with the applied techniques. The NT favors the colonization by arbuscular mycorrhizal fungi with the elapsing of the time of application of the system.

1 INTRODUÇÃO

O sistema de plantio direto (SPD) nos últimos 20 anos vem sendo paulatinamente adotado pelos agricultores brasileiros, principalmente nas regiões Sul e Centro-Oeste. Mais recentemente tem sido difundido também nas regiões Sudeste, Nordeste e Norte do país. Estima-se que ao redor de 10 milhões de hectares sejam anualmente cultivados no SPD, o que representa 29% dos 34,2 milhões hectares de área produtora de grãos no país (FEBRAPDP,1999; SIDRA-IBGE-1997,1998).

A biomassa microbiana é um componente importante nos agrossistemas, uma vez que ela atua como agente regulador da taxa de decomposição da matéria orgânica, da ciclagem dos nutrientes necessários ao crescimento das plantas e do fluxo de energia na cadeia trófica do solo (Jenkinson & Ladd, 1981; Ladd et al., 1985). O conhecimento da ação reguladora da biomassa microbiana nos ciclos dos nutrientes e suas interações é, portanto, essencial ao planejamento do uso correto dos recursos naturais não renováveis como fósforo e potássio e dos insumos químicos como xenobióticos.

Atualmente sabe-se que na estrutura da comunidade microbiana do solo existem grupos de microrganismos que são de suma importância para a sustentabilidade dos agrossistemas e do ecossistema natural, tal como os rizóbios, as micorrizas, os amonificadores, os nitrificadores, os fixadores assimbióticos e outros. Entretanto, sabe-se muito pouco sobre como manejar o solo com o propósito de explorar ao máximo esses nichos, visando a otimização do uso dos

recursos não renováveis com aumento da produtividade, por fim, resultando na diminuição do custo-benefício em prol do produtor agrícola.

No Brasil, uma das propriedades pioneiras a utilizar o SPD foi a fazenda Santa Branca, localizada no município Tibagi, PR. A sua atividade agrícola foi iniciada no ano de 1959, sendo que o arroz de sequeiro foi a cultura pioneira. Nessa época, os técnicos procuravam as áreas de menor declividade para o plantio. Não havia, portanto, preocupações com a conservação do solo. Em 1962, com o plantio de trigo no inverno e de arroz sequeiro no verão, já notavam uma excessiva movimentação do solo, com ocorrência de danos físicos na sua estrutura e, por conseguinte, danos biológicos ao mesmo. Em 1967 houve a substituição da cultura do arroz de sequeiro pela cultura da soja, ocorrido também no cenário nacional, formando o binômio soja-trigo. A partir desse momento ocorreu um aumento da demanda de área para cultivo, ocasionando plantio em áreas com declividades maiores, ditas marginais, resultando no aumento da erosão do solo (Miranda, 1983).

No ano de 1975 foi realizado o primeiro plantio direto de soja na Fazenda Santa Branca, com semeadora “ Semeato PS-6” com disco ondulado. Aos poucos as áreas plantadas com o sistema plantio direto foram aumentando, chegando em 1983 a 100 % da área plantada (Miranda, 1983). A partir daí, a cada ano, novas áreas iam sendo incorporadas ao plano de plantio, sempre pelo SPD, como é realizado até hoje. Esse histórico torna esta fazenda um campo ideal para o estudo proposto, pelo fato de possuir áreas com aproximadamente 10 e 20 anos de plantio direto com rotação de culturas.

A partir dessa possibilidade, avaliou-se o efeito do tempo de adoção do sistema plantio direto (SPD) sobre a microbiota do solo e sua atividade em uma cronossequência formada por um campo nativo (CAN), uma área de preparo convencional do campo nativo (PCN) e duas áreas em SPD, uma implantada em 1989 (PD10) e outra em 1979 (PD20). A área PCN foi incluída na

cronossequência pelo motivo das áreas de SPD tenham sido anteriormente manejado no preparo convencional.

Os resultados obtidos serão divulgados na forma de duas publicações que constituem, capítulos 3 e 4 da presente dissertação:

1. " A biomassa microbiana e sua atividade em uma cronossequência do sistema plantio direto". Enviado para publicação à revista Soil & Tillage Research. A meta específica deste trabalho foi avaliar a biomassa microbiana e sua atividade utilizando parâmetros biológicos numa cronossequência formada por um campo nativo; uma área com preparo convencional do campo nativo, um sistema de plantio direto com início em 1989 e 1979.
2. " Quantificação da microbiota, avaliação da colonização por fungos micorrízicos e nodulação numa cronossequência sob sistema plantio direto." Enviado para publicação à Revista Brasileira de Ciência do Solo. Neste trabalho, o objetivo foi quantificar os grupos específicos de microrganismos como bactérias e fungos totais, amonificadores e nitrificadores e a percentagem de colonização dos fungos micorrízicos arbusculares na cultura do milho e soja, e por último o número e a massa de nódulos na planta de soja.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sistema Plantio Direto

O princípio do SPD é milenar, os índios da América já cultivam milho com muito pouca movimentação do solo. O SPD começou a ser estudado cientificamente nos anos 40 na Inglaterra e nos anos 50 em Michigam, EUA. No Brasil, o primeiro experimento foi na Estação Experimental da Secretaria da Agricultura do Estado do Rio Grande do Sul em 1967 na cidade de Não - me - Toque com sorgo (Borges,1993).

O surgimento de herbicidas de contato combinado com o desenvolvimento de semeadora – adubadora apropriada ao plantio direto, deram impulso a esse sistema em meados dos anos 70. A princípio, o SPD foi visualizado no meio técnico - científico como uma ferramenta de controle de erosão. Nos dias atuais tornou-se uma nova filosofia de trabalho no campo, com conotação de sistema. O SPD é então definido como sistema de exploração agropecuária que envolve diversificação de espécies vegetais via rotação de culturas, as quais são estabelecidas mediante a mobilização do solo exclusivamente na linha de semeadura, e mantendo-se os resíduos das culturas anteriores na superfície do solo (Denardin & Kochhann,1993).

O plantio direto é um sistema de exploração agrícola que mais se aproxima de um sistema natural, tal como uma floresta ou campo nativo, tendo em vista que não há revolvimento do solo e que há manutenção de uma cobertura

verde e/ou morta permanente sobre o solo. Como consequência, o SPD propicia a formação de uma estratificação através do acúmulo acentuado de matéria orgânica e nutrientes na camada superficial do solo, que por conseguinte afeta a sua biologia.

2.2 Sistema Plantio Direto e a microbiota do solo

O solo é um dos ambientes naturais mais rico em diversidade ecológica. Um dos seus componentes vivo, aqui chamado de microbiota, representada pelas bactérias, fungos, algas e protozoários são responsáveis por cerca 90% da atividade biológica do solo. Entretanto, é sabido que o manejo influencia a microbiota do solo uma vez que controla a disponibilidade dos substratos orgânicos e atua nas propriedades física e química do solo. Granatstein et al. (1987), estudaram três rotações de culturas sob dois tipos de preparo de solo, no leste dos EUA. Observaram que a biomassa microbiana do solo foi influenciada pelas rotações de culturas e, mais ainda, pelo tipo de preparo do solo.

No SPD, onde não ocorre o revolvimento do solo, há deposição dos resíduos vegetais e as práticas de calagem e adubação criam condições favoráveis aos microrganismos na camada superficial. Em consequência disso a microbiota e a sua atividade geralmente são maiores nas camadas superficiais nesse tipo de sistema quando comparado com o preparo convencional (Lynch & Pantich, 1980; Doran, 1980; Carter & Rennie, 1982).

Diversos autores relatam aumento de matéria orgânica no SPD, quando esse é comparado com o preparo convencional (Lynch & Panting, 1980; Silva Filho & Vidor, 1984; Lima et al., 1994). Porém, nos estudos realizados em campo, é difícil separar os efeitos diretos da adição de C e N pela matéria orgânica, dos efeitos indiretos, causados pelas menores variações de temperatura e umidade. Tais fatores estão diretamente relacionados à atividade da microbiota. Como exemplo, Marote et al. (1990a) conduziram um experimento no Rio

Grande do Sul, adicionando 6,6 T de palha ha^{-1} a um solo descoberto reduzindo a temperatura máxima do solo de 38°C para 30°C. No Paraná, a temperatura máxima, a 3 cm de profundidade atingiu 36°C em solo sob SPD, enquanto que no preparo convencional foi de 46°C, constando, ainda uma menor disponibilidade de água (Sidiras & Pavan, 1985). Essas diferenças de temperaturas e umidade do solo podem ser responsáveis, em grande parte, pela redução e seleção da microbiota.

Uma grande parcela dos trabalhos encontrados na literatura comparam os diversos sistemas de manejo do solo. Entretanto, encontra-se poucos que estudaram a evolução dos sistemas de manejo e seu impacto nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo. Sobre o SPD encontra-se dois. O de Carter & Rennie (1982) que avaliaram as propriedades químicas e físicas em uma cronossequência formada por áreas de 2, 4, 12, e 16 de plantio direto no oeste do Canadá. Esses autores observaram aumento de C e N total no solo e diminuição na biomassa microbiana-C e N no tratamento de 16 anos de plantio direto. O outro é de Staley et al. (1988) que estudaram uma cronossequência de 20 anos de plantio direto onde verificaram que houve um aumento de 35% na biomassa microbiana – C da camada 0–7,5 cm em relação ao tempo zero (preparo convencional) e de 17% na camada 7,5–15 cm. Podemos observar que a biomassa microbiana-C se comportou diferente nos dois estudos, provavelmente outros devido a fatores que devem estar influenciando na microbiota, como práticas agrícolas (adubação e calagem) e/ou rotação de culturas.

Estudo recente realizado durante três anos (1992 a 1994) por Balota et al. (1998), instalado em um latossolo roxo distrófico em Londrina, PR e conduzido por 20 anos, demonstrou que a atividade microbiana, representada pela respiração basal, foi 73% maior no SPD quando comparada com preparo convencional. Por outro lado, houve um decréscimo de 28% no quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) no SPD. Segundo esses autores, esse decréscimo no $q\text{CO}_2$ pode explicar o maior

acúmulo de C no solo a longo prazo no SPD. Outra constatação desses autores, foi o crescimento da biomassa microbiana- C e N de 118 e 101% no SPD em relação ao preparo convencional.

Quando analisa-se os grupos de microrganismos como bactérias e fungos totais, observa-se sua dinâmica de crescimento e sua resposta às mudanças nas propriedades físicas e químicas do solo. Entretanto, muitos trabalhos relatam alterações nas quantidade de bactérias e fungos em função do manejo do solo. Um exemplo é o trabalho clássico do Doran (1980), que avaliou as alterações em grupos de microrganismos específicos no SPD em vários locais nos Estados Unidos, obtendo aumento significativos em bactérias aeróbias, fungos totais, anaeróbios facultativos e desnitrificadores quando comparado com o preparo convencional (PC). Em estudo mais recente, Cattelan et al. (1997b) avaliaram o efeito de sete sistemas de preparo do solo na microbiota do solo, verificaram que as bactérias sofreram alterações quantitativas, enquanto os fungos não foram afetados pelos diferentes sistemas.

No ciclo do nitrogênio três grupos de microrganismos exercem papel fundamental. São eles: os amonificadores, nitrificadores e os desnitrificadores. Os microrganismos amonificadores são responsáveis pela reação de oxidação do N orgânico resultando como produto o amônio (NH_4^+). Os nitrificadores oxidam o NH_4^+ na primeira etapa em nitrito (NO_2^-), posteriormente em nitrato (NO_3^-). Já os desnitrificadores oxidam o NO_3^- resultando como produto N_2 ou N_2O (Stevenson, 1982). A atuação desse grupo de microrganismos vem sendo estudados no SPD, porém com pouca frequência. Doran (1980) verificou uma razão de 7,31:1 para os desnitrificadores no SPD em relação ao preparo convencional. Andrade et al (1993) verificaram que os nitrificadores apresentaram aumento no SPD em relação ao PC. Já os amonificadores e bactérias assimbióticas (*Azospirillum* spp.), também apresentaram maior número no SPD, mas não houve diferença estatística.

Os fungos micorrízicos ocupam um nicho ecológico importante na agricultura sustentável, não só do ponto de vista biológico de mutualismo, mas também do ponto de vista econômico. Infelizmente não sabemos ainda quantificar os efeitos indiretos de uma planta micorrizada na redução de fertilizantes e xenobióticos que pode vir a acontecer.

Os fungos micorrízicos são influenciado pelas práticas de manejo do solo. Adubações com grandes quantidades de fertilizantes, monocultura, e o uso indiscriminado de xenobióticos reduzem a incidência dos fungos micorrízicos. Por outro lado, uso de adubações balanceadas, rotação de cultura com espécies micorrízicas facultativas aumenta a sua incidência (Siqueira & Franco, 1988). No SPD, espera-se um ambiente mais propício ao desenvolvimento e manutenção dos fungos micorrízicos, por causa da rotação de cultura, o aumento da matéria orgânica do solo e a formação de macroagregados no solo. Alguns estudos já comprovam essa hipótese, como o de Colozzi-Filho (1991), que estudou a colonização radicular dos fungos micorrízicos arbusculares em trigo, onde verificou maior colonização no SPD em relação ao PC. O mesmo autor constatou maior esporulação no PC, atribuindo este aumento ao estado de instabilidade que sofre o fungo com as mudanças de condições físicas, químicas e biológicas do solo. Entretanto, Fernandes (1995) não obteve diferenças estatísticas entre o percentual de colonização dos fungos micorrízicos na cultura da aveia no SPD quando comparada ao PC. Já Andrade et al. (1993), quando comparou a microbiota do solo sob SPD e sob PC, constataram diferenças significativas a favor do SPD nos fungos micorrízicos.

Entre as bactérias fixadoras de nitrogênio, o rizóbio destaca-se não só pela sua eficiência na fixação do nitrogênio, mas também pela sua consolidação no meio agrônomo. A sua importância está estreitamente ligada à economicidade na produção agrícola. Adequação do solo é fundamental para boa nodulação. Para

isso deve-se manejar o solo de maneira a propiciar um bom “habitat” aos rizóbios. O SPD tem condições de propiciar “habitat”, no sentido ideal ao desenvolvimento dos rizóbios, através do aumento da matéria orgânica. Por conseguinte, ocorrem melhorias nos fatores químicos e físicos do solo, como pH, nutrientes, aeração, temperatura, umidade, etc. Alguns resultados já confirmam essa hipótese, como os de Voss et al (1985), que avaliaram a nodulação de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em PD e PC no Latossolo Roxo Distrófico em dois locais em Londrina-PR. Verificaram que no PD os nódulos tiveram 2,5 vezes maior peso que no PC. A distribuição dos nódulos no PD foram 69% na camada 0-20 cm e o restante até a profundidade de 60 cm, enquanto no PC 85% dos nódulos foram ocorreram nos primeiros 20 cm e o restante até 50 cm. Os resultados obtidos pelos autores permitiram concluir que o SPD beneficia a nodulação no aspecto fixação biológica de nitrogênio e distribuição espacial dos nódulos.

Castros et al. (1993) estudaram, em casa de vegetação com amostras de solos provenientes de SPD e preparo convencional com diferentes rotações a atividade de *Bradyrhizobium japonicum*, de bactérias e fungos totais, microrganismos celulolíticos, amonificadores, nitritadores e nitratores. Esses autores verificaram que o SPD com rotação com milho levou a uma maior nodulação na soja. No SPD havia maiores populações de microrganismo celulolíticos, enquanto que os demais grupos de microrganismos não diferenciaram o preparo e manejo das culturas.

A BIOMASSA MICROBIANA E SUA ATIVIDADE EM UMA CRONOSSEQUÊNCIA SOB SISTEMA PLANTIO DIRETO

RESUMO

O efeito do tempo de adoção do sistema plantio direto [SPD] na biomassa microbiana [BM] do solo e sua atividade foram avaliados em um latossolo, no município Tibagi, PR, Brasil. As áreas estudadas constituíram uma cronossequência composta de: 1) área coberta pela vegetação nativa = campo nativo [CAN], 2) área cultivada por 1 ano pelo sistema convencional sobre campo nativo [PCN], 3) área cultivada desde 1989 no SPD [PD10], e outra cultivada desde 1979 no SPD [PD20]. O C-total, o N-total, e o N-amoniaco foram maiores no PCN, provavelmente devido ao efeito da decomposição da vegetação nativa incorporada ao solo após o preparo convencional. O C-total no PD20 foi semelhante ao C-total no CN, sugerindo que um longo período de SPD restaura o nível original de C do solo. A biomassa microbiana-C [BMC] diminuiu na cronossequência, principalmente nas duas camadas superficiais, na ordem de 36% e 57% na camada 0-2,5 cm e 49% e 56% na camada 2,5-5,0 cm para PD10 e PD20, respectivamente. A biomassa microbiana-N [BMN] não apresentou diferença estatística entre os tratamentos VN, PD10 e PD20 na camada 0-2,5 cm, porém nas camadas subjacentes o PD10 e o PD20 apresentaram diminuição significativa em relação ao VN e PCN. A relação $C_{mic}:N_{mic}$ da camada 0-2,5 cm diminuiu na cronossequência de 4,30 no CAN para 2,03 no PD20. O quociente metabólico [qCO_2] e a respiração basal aumentaram na cronossequência em até

507% e 240% respectivamente na camada 0-2,5 cm. A relação $C_{mic}:C_{solo}$, a relação $N_{mic}:N_{solo}$ e a relação diminuíram na cronosequência. Conclui-se que o tempo de adoção do sistema plantio direto teve efeito na microbiota e na sua atividade. A diminuição da BMC, o aumento da respiração basal e do qCO_2 , e a menor relação $C_{mic}:N_{mic}$ são fortes indicadores de que tenham ocorrido mudanças na composição da biomassa microbiana do solo.

SUMMARY

The effect of adoption time of the no-tillage system [SPD] on the soil microbial biomass [MB] and its activity were evaluated in a latosol, in Tibagi, PR, Brazil. The areas under study constituted a chronosequence of: 1) an area covered with virgin native field [VN], 2) an area cultivated for one year under conventional tillage system in virgin native field [PCN], 3) an area cultivated since 1989 under SPD [NT10], and an area cultivated since 1979 under SPD [NT20]. The total-C, the total-N, and the ammonium-N were greater in the PCN, probably due to the effect of the decomposition of native vegetation incorporated into the soil during the conventional preparation. The total-C in the NT20 was similar to the total-C in the CN, suggesting that a long period of SPD restores the soil's original C level. The microbial biomass-C [MBC] decreased in the chronosequence, mainly in the two superficial layers in the order of 36% and 57% in the 0-2.5 cm layer and 49% and 56% in the 2.5-5.0 cm layer for NT10 and NT20 respectively. The microbial biomass-N [MBN] did not present a significant difference between the treatments VN, NT10 and NT20 in the 0-2.5 cm layer. However, in the subjacent layers the NT10 and the NT20 showed a significant reduction compared to VN and PCN. The $C_{mic}:N_{mic}$ ratio of the 0-2.5 cm layer decreased in the chronosequence from 4.30 in the VN to 2.03 in the NT20. The NT20 presented a more accentuated reduction in the ratio at lower depths than the other treatments. The metabolic quotient [qCO_2] and basal respiration increased

in the chronosequence by up to 507% and 240% respectively in the 0-2.5 cm layer. The $C_{mic}:C_{total}$, $N_{mic}:N_{total}$ and $C_{soil}:N_{soil}$ ratios diminished in the chronosequence. Thus it can be concluded that the adoption time of the no-tillage system had an effect on the MB and its activity. A reduction of the MBC, increase in the basal respiration and the qCO_2 and low $C_{mic}:N_{mic}$ ratio are strong indicators that changes have occurred in the composition of the soil microbial biomass.

3.1 INTRODUÇÃO

Na busca de uma agricultura sustentável, é essencial a compreensão do funcionamento dos diversos agrossistemas que abrange, entre outros fatores, o entendimento da organização da comunidade microbiana e a sua relação com os fatores abióticos. O sistema plantio direto (SPD) é um agrossistema que atende a alguns dos requisitos básicos de uma agricultura sustentável, como a conservação dos recursos naturais (solo e água) (Reicosky et al., 1995; Fawcett, 1997).

Encontram-se na literatura diversos trabalhos que discutem os efeitos dos diferentes manejos do solo e da sucessão de culturas sobre a atividade microbiana. Na maioria dos casos o SPD proporcionou aumento do teor de matéria orgânica e do seu componente vivo e mais ativo, a biomassa microbiana (BM) (Lynch & Panting, 1980; Silva Filho & Vidor, 1984; Domsch, 1985; Follett & Shimel, 1989; Lima et al, 1994; Fernandes, 1995; Balota et al, 1998). No entanto, pouco se conhece a respeito da influência do tempo de adoção SPD sobre a BM e sua atividade.

A BM fornece uma indicação da quantidade de nutrientes imobilizados nos compartimentos lábeis da matéria orgânica do solo e exerce a função de agente regulador da taxa de decomposição da matéria orgânica e da ciclagem dos elementos (Jenkinson & Ladd, 1981; Jenkinson, 1988). Entretanto, as avaliações

da BM sem associações a outras variáveis, não informam sobre a atividade biológica do solo, decomposição ou ciclagem de nutrientes (Jenkinson, 1988). Para isso, é necessário relacionar com outras variáveis, por exemplo: respiração basal; quociente metabólico (qCO_2); relação $C_{mic}:N_{mic}$; relação $C_{mic}:C_{total}$; relação $N_{mic}:N_{total}$; relação $C_{total}:N_{total}$ (Anderson & Domsch, 1978; Wardle & Hungria, 1994; Insan & Domsch, 1988 Blagodatsky & Richter, 1998;). Esses índices têm sido utilizados para monitorar a dinâmica da matéria orgânica e seu compartimento vivo em sistemas agrícolas.

Visou-se neste trabalho obter informações sobre o comportamento da BM e sua atividade no SPD em relação ao tempo de adoção. Para isso utilizou-se uma cronossequência formada por uma área de campo nativo, uma área com preparo convencional do campo nativo e duas áreas com 10 e 20 anos de plantio direto.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Localização das áreas amostradas

As áreas estudadas localizam-se na Fazenda Santa Branca, no município de Tibagi, Estado do Paraná (Figura 1). As coordenadas geográficas de referência são: $24^{\circ} 36' S$ e de $50^{\circ} 23' W$ de Greenwich.

Figura 1. Localização da Fazenda Santa Branca, Tibagi-PR. As áreas de coleta de amostras estão marcadas em azul na fotografia aérea.

3.2.1 Caracterização edafo-climática da área

O solo da região é classificado como um Latossolo Vermelho-Escuro distrófico (Le_d), derivado de material retrabalhado de rochas sedimentares do período Devoniano.

O clima, de acordo com a classificação de Koeppen, é do tipo Cfb, ou seja, clima temperado propriamente dito, com verões frescos, geadas severas e freqüentes no inverno, com temperatura média no mês mais quente (janeiro) inferior a 22°C e no mês mais frio (julho) de 18°C. A precipitação total média anual é de 1.700 mm, sem estação seca definida (Instituto Agrônomo do Paraná, 1994).

O relevo é suavemente ondulado, com pendentes longas, a ondulado, cortado pela escarpa devoniana. A altitude varia entre 1.150 metros na testa da Formação Furnas e 800 metros no vale do rio Tibagi. Na área experimental a altitude média é de 910 metros. A composição florística original caracteriza-se pela presença de gramíneas baixas, sendo desprovida de arbustos, ocorrendo apenas matos ou capões, limitados às depressões em torno das nascentes (Maack, 1981). O termo usual para a denominação desse tipo de vegetação é Campos Gerais.

3.2.3 Histórico das áreas

Campo nativo (CAN): esta área apresentava a vegetação nativa da região, não tendo sofrido ação antrópica significativa, segundo relato do administrador da Fazenda Santa Branca.

Preparo do campo nativo (PCN): esta área coberta por campo nativo até 2 anos atrás, sofreu ação antrópica recentemente. Em 1996 foi realizada a correção da acidez e da fertilidade do solo com a aplicação de 3 t/ha de calcário dolomítico com 85% PRNT e 0,14 t/ha de superfosfato triplo, e o plantio de soja no verão

com preparo convencional (aração e duas gradagens). No inverno de 1997 foi semeada aveia preta.

Plantio Direto com início em 1989 (PD10): antes de 1989 esta área era cultivada no sistema de preparo convencional. Em 1992 e 1996 foram adicionados 3.174 e 1.800 kg/ha de calcário dolomítico (29% CaO e 19 % MgO) respectivamente. As quantidades de fertilizantes aplicados e grãos colhidos encontram-se descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Rotação de culturas, produção de grãos, produção de massa seca e adubação realizada no período de 1989 a 1997.

Ano	Inverno					Verão						
	Cultura	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Grãos	M.S.	Cultura	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Grãos	M.S.
			----- kg ha ⁻¹ -----						----- kg ha ⁻¹ -----			
1989	A. preta	-	-	-	-	2.700	Soja	-	78	56	2.772	2.495
1990	Trigo	46	67	63	3.192	3.192	Soja	-	78	56	2.754	2.479
1991	A. preta	-	-	-	-	3.200	Milho	71	62	78	4.086	4.086
1992	A. preta	-	-	-	-	3.200	Soja	-	55	55	2.928	2.635
1993	Trigo	44	57	46	2.178	2.178	Soja	-	43	65	2.928	2.635
1994	A. preta	-	-	-	-	3.500	Milho	95	84	80	8.330	8.330
1995	A. preta	-	-	-	-	3.500	Soja	-	31	94	3.487	3.138
1996	Trigo	48	60	51	3.500	3.500	Soja	-	-	-	2.230	2.007
1997	A. preta	-	-	-	-	3.500	Milho	-	-	-	-	-
Total		138	184	160	8.870	28.470		166	461	574	29.515	27.805
(inverno + verão)		(N)	(P ₂ O ₅)	(K ₂ O)	Total de Produção de Grãos (kg)						38.385	
Total de Nutriente (kg)		304	645	734	Total de Mat. Seca (parte aérea - kg)						56.275	

M.S. – Matéria seca ; A.preta – Aveia preta

Fonte: Fazenda Santa Branca – Tibagi, PR

Plantio direto com início em 1979 (PD20): antes de 1979 esta área era cultivada no sistema de preparo convencional. Em 1993 e 1996 foram adicionados 3.760 e 1.800 kg/ha de calcário dolomítico (29% CaO e 19 % MgO) respectivamente. As quantidades de fertilizantes aplicados e grãos colhidos encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Rotação de culturas, produção de grãos, produção de massa seca e adubação realizada no período de 1979 a 1997.

Nutrientes fornecidos no período de 1979 a 1997													
Ano	Inverno						Verão						
	Cultura	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Grãos	M.S.	Cultura	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Grãos	M.S.	
		----- kg ha ⁻¹ -----							--- kg ha ⁻¹ -----				
1979	Trigo	18	92	92	2.566	2.566	Soja	11	57	57	2.407	2.166	
1980	Tremoço	-	-	-	-	1.800	Soja	8	39	39	1.044	940	
1981	Trigo	13	150	56	2.262	2.262	Soja	5	27	27	2.322	2.090	
1982	Tremoço	-	-	-	-	1.800	Milho	53	56	56	3.462	3.462	
1983	A. preta	44	57	46	2.178	2.500	Soja	10	78	42	3.102	2.792	
1984	A. preta	-	-	-	-	2.700	Soja	4	30	16	3.318	2.986	
1985	Trigo	45	75	43	2.376	2.376	Soja	-	-	-	2.682	2.414	
1986	A. preta	-	-	-	-	2.700	Milho	48	69	66	7.626	7.626	
1987	A. preta	-	-	-	-	2.700	Soja	-	42	-	2.718	2.446	
1988	Trigo	53	75	43	2.100	2.100	Soja	-	70	50	2.388	2.149	
1989	A. preta	-	-	-	-	3.200	Soja	-	75	53	2.322	2.090	
1990	A. preta	-	-	-	-	3.200	Soja	-	75	53	2.592	2.333	
1991	A. preta	-	-	-	-	3.200	Milho	83	65	87	8.160	8.160	
1992	A. preta	-	-	-	-	3.500	Soja	-	50	50	3.672	3.305	
1993	Trigo	44	58	48	2.292	2.292	Soja	-	38	58	3.066	2.759	
1994	A. preta	-	-	-	-	3.500	Milho	96	90	84	8.804	8.804	
1995	Trigo	49	61	51	2.300	2.300	Soja	-	-	90	3.194	2.874	
1996	A. preta	-	-	-	-	3.500	Soja	-	30	90	3.020	2.718	
1997	A. preta	-	-	-	-	3.500	Milho	-	-	-	-	-	
Total		222	567	277	13.896	51.696		324	799	918	65.899	61.768	
(inverno + verão)		(N)	(P ₂ O ₅)	(K ₂ O)	Total de Produção de Grãos (kg)						79.795		
Total de Nutriente (kg)		546	1.366	1.195	Total de Mat. Seca (parte aérea - kg)						117.595		

M.S. – Matéria Seca ; A.preta – Aveia preta

Fonte: Fazenda Santa Branca - Tibagi, PR

3.2.4 Época e Plano de Amostragem no campo

A amostragem do solo de todas as áreas foi realizada entre os dias 2 e 10 de setembro de 1997. A cobertura vegetal do PCN, PD10 e PD20 nesta época da era aveia preta em final de ciclo.

Cada área experimental foi dividida em três sub-áreas com as dimensões de 50 m x 40 m. Em cada sub-área foram abertas nove mini-trincheiras de 50x20x20 cm, sendo coletadas amostras nas profundidades 0,0-2,5; 2,5-5,0; 5,0-10,0; 10,0-20,0 cm (Figura 2).

Figura 2. Plano de amostragem das áreas e esquema da mini-trincheira.

3.2.5 Preparo das amostras de solo

As amostras coletadas foram acondicionadas em caixas térmicas e enviadas à Seção de Biogeoquímica do Solo no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA)-USP, Piracicaba, SP. Após serem peneiradas a 2 mm de abertura de malha, parte foi armazenada em sacos de polietileno sob refrigeração (4°C) para posterior processamento das análises microbiológicas e parte foi seca ao ar para as análises químicas.

3.2.6 Delineamento experimental

A situação encontrada no campo, determinou que o experimento fosse delineado na forma de ensaio em faixas não casualizadas com parcelas subdivididas, constando de quatro tratamentos (CAN, PCN, PD10, PD20) e três repetições (sub-áreas). As diferentes profundidades constituíram subparcelas do fator tratamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste T - student ao nível de 5% de probabilidade.

3.2.7 Análises Químicas

3.2.7.1 pH do solo em CaCl_2

O pH do solo foi determinado em solução de CaCl_2 0,01 M na proporção solo:solução de 1:2,5. (Raij et al., 1987), em três réplicas de cada repetição.

3.2.7.2 Nitrogênio mineral

Amônia, nitrito e nitrato foram determinados pelo sistema de Análise por Fluxo (Flow Injection Analysis)- FIA. Utilizaram-se 10 gramas de solo e 50 ml do extrator cloreto de potássio 2 N (Ruzicka & Hansen, 1981).

3.2.7.3 Carbono total do solo

A determinação do carbono total do solo foi realizado por combustão a seco em alíquotas moídas a 100 meshe. O equipamento utilizado foi o LECO® - CR-412 Carbon Analyzer.

3.2.7.4 Nitrogênio total do solo

Utilizou-se uma adaptação do método micro-kjeldahl que envolve o uso de uma solução digestora á base de H_2O_2 (1000 mL), H_2SO_4 (1200 mL), Se (1,2g) e LiSO_4 (40 g). A digestão foi à 320°C por 4 horas. A titulação do destilado, o qual foi recolhido em 10 mL de solução de H_3BO_3 (2%), misturada com uma solução de verde de bromocresol e vermelho de metila, e posteriormente titulado com H_2SO_4 (0,05 mol/L).

3.2.7.5 Relação Carbono-Nitrogênio do Solo ($C_{\text{solo}}:N_{\text{solo}}$)

A relação $C_{\text{solo}}:N_{\text{solo}}$ foi obtida pela razão entre carbono e nitrogênio totais do solo.

Cálculo:

$$\text{Relação } C_{\text{solo}}:N_{\text{solo}} = \frac{mgC_{\text{total solo}}}{mgN_{\text{total solo}}}$$

3.2.8 Análises Microbiológicas

3.2.8.1 Biomassa microbiana do solo

As biomassas microbiana-C e N foram determinadas pelo método da fumigação-extração (FE) sugerido por Vance et al. (1987) e Brookes et al. (1985). Esse método é o mais indicado para solos ácidos e com recente incorporação de restos vegetais (Brookes et al., 1985; Vance & Jenkinson, 1987).

3.2.8.2 Respiração basal do solo

A respiração basal do solo foi determinada pela quantificação do dióxido de carbono (CO_2) liberado no processo de respiração microbiana durante 10 dias de incubação. Para isso, 30 g de amostra de solo foram colocados em frascos de vidro com tampa hermética de 1,5 litros de capacidade juntamente com um frasco menor contendo 20 ml de NaOH 1 N para capturar o CO_2 liberado. O CO_2 foi determinado por titulometria com HCl 0,5 N, após a precipitação do carbonato de bário formado pela adição de solução aquosa saturada de cloreto de bário (BaCl_2) à solução de NaOH, usando como indicador fenoftaleína diluída em 100 ml de Etanol (60% v/v).

3.2.8.3 Quociente metabólico ($q\text{CO}_2$)

O quociente metabólico foi calculado pela razão entre a respiração basal e a biomassa microbiana-C (Pirt, 1975; Anderson & Domsch, 1978).

Cálculo:

$$qCO_2 = \frac{\mu g CO_2 \cdot h^{-1} \cdot g^{-1} solo}{\mu g C_{mic} \cdot g^{-1} solo}$$

3.8.4 Relação biomassa microbiana-C : carbono total ($C_{mic} : C_{total}$)

A relação $C_{mic} : C_{total}$ foi obtida pela razão entre carbono da biomassa microbiano e o carbono total do solo.

Cálculo:

$$\text{Relação } C_{mic} : C_{total} = \frac{\mu g C_{mic} \cdot g^{-1} solo}{mg C_{total} solo}$$

3.8.5 Relação biomassa microbiana - N : nitrogênio Total ($N_{mic} : N_{total}$)

A relação $N_{mic} : N_{total}$ foi obtida pela razão entre nitrogênio da biomassa microbiano e o nitrogênio total do solo.

Cálculo:

$$\text{Relação } N_{mic} : N_{total} = \frac{\mu g N_{mic} \cdot g^{-1} solo}{mg N_{total} solo}$$

3.8.6 Relação biomassa microbiana-C : biomassa microbiana-N

($C_{mic} : N_{mic}$)

A relação $C_{mic} : N_{mic}$ foi obtida pela razão entre a biomassa microbiana-C e a biomassa microbiana-N.

Cálculo:

$$\text{Relação } C_{mic} : N_{mic} = \frac{mg C_{mic} \cdot g^{-1} solo}{mg N_{mic} \cdot g^{-1} solo}$$

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Alterações do pH e dos teores de C e N do solo

A análise do pH mostra nitidamente valores mais baixos no CAN em todas as profundidades analisadas em relação aos demais tratamentos (Tabela 3). Nesse caso um gradiente de diminuição de pH decorrente do aumento da profundidade, como verificou-se nos demais tratamentos. Os maiores valores de pH foram observados nos tratamentos de SPD (tratamento PD10 e PD20) em todo o perfil analisado, sendo que na camada mais superficial os valores foram próximos à neutralidade. Entre os tratamentos PD10 e PD20 não foram verificadas diferenças significativas de pH, exceto na camada 10-20 cm do PD20 que obteve o menor valor. A elevação do pH já era esperado nos referidos tratamentos uma vez que receberam as últimas aplicações de calcário dolomítico em 1996, como citado no histórico das áreas. O PCN apresentou valores de pH intermediários ao do CAN e aos dos tratamentos com SPD. É importante salientar que o PCN também sofreu calagem na sua implantação, o que levou à correção do pH

A importância desses valores mais altos reside no fato deles proporcionarem um ambiente ideal para a atividade bioquímica dos microrganismos celulolíticos, uma vez que a enzima celulase é mais ativa em solos com pH próximo à neutralidade (Tsai et al., 1992).

Tabela 3. Valores de pH em CaCl_2 do solo em quatro diferentes profundidade, na cronossequência constituída por: Campo nativo (CAN); Preparo convencional sob campo nativo (PCN); Plantio direto deste 1989 (PD10); e Plantio direto deste 1979 (PD20).

Profundidade	CAN	PCN	PD10	PD20
0–2,5 cm	3,97 aC	5,51 aB	6,23 aA	6,23 aA
2,5–5,0 cm	3,85 aC	4,53 bA	5,71 bA	5,73 bA
5,0–10,0 cm	3,87 aB	3,94 cB	5,16 cA	5,20 cA
10,0–20,0 cm	3,92 aC	3,86 cC	4,84 dA	4,64 dB

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% propabilidade pelo teste T-student.

O PCN apresentou os maiores teores de C e N total (Tabela 4), devido, em grande parte, à matéria orgânica remanescente da vegetação nativa que foi incorporada ao solo. Pelo mesmo motivo o PCN também não apresentou um gradiente de estratificação desses elementos como os demais tratamentos.

O PD20 apresentou valores de carbono total da ordem de 29,07 e 23,65 g C kg⁻¹ solo nas camadas 0–2,5 cm e 2,5–5 cm respectivamente, semelhantes ao CAN, diferenciando-se do PD10 que ficou em 21,85 e 17,07 g C kg⁻¹ solo, nas mesmas camadas (Tabela 4). Esse fato demonstra uma tendência de aumento da quantidade de matéria orgânica no solo em função do tempo de adoção do SPD. Resultados semelhantes foram obtidos por Staley et al. (1988) que estudaram uma cronossequência na Estação Experimental de Watershed, Coshocton – Ohio, EUA. Verificaram que após 20 anos de SPD que o conteúdo de N aumentou 48% e o de C 94% em média na camada 0–7,5 cm em relação ao tempo zero (área com preparo convencional). Neste trabalho o sistema de preparo convencional foi usado como referência, enquanto que no presente trabalho utilizamos o CAN.

Lima et al. (1994), comparando diferentes sistemas de cultivos de solo com campo nativo na região de Ponto Grossa, PR, verificaram que no SPD com 14 anos, o cultivo mínimo e o preparo convencional reduziram o estoque de carbono em relação ao campo nativo em 27%, 29% e 22% , respectivamente. No presente trabalho, o PD10 apresentou perda de 33% de carbono, sem correção da densidade do solo, enquanto o PD20 diminuiu a perda para 6% em relação ao campo nativo. Portanto, os resultados aqui obtidos, estão de acordo com os obtidos por Lima et al. (1994).

Tabela 4. Teores de carbono, nitrogênio, amônio e nitrato no solo em quatro diferentes profundidades na cronossequência constituída por: Campo nativo (CAN); Preparo convencional do campo nativo (PCN); Plantio direto deste 1989 (PD10); e Plantio direto deste 1979 (PD20).

Profundidade	CAN	PCN	PD10	PD20
Carbono Total				
g C kg ⁻¹ solo				
cm				
0 - 2,5	27,93 aB	34,80 aA	21,85 aC	29,07 aB
2,5 - 5,0	24,85 aB	34,02 aA	17,07 bC	23,65 bB
5,0 - 10,0	19,93 bB	33,20 aA	13,05 cD	17,18 cC
10,0 - 20,0	18,78 bB	28,28 bA	09,05 dD	15,93 cC
C.V. 4,76%				
Nitrogênio Total				
g N kg ⁻¹ solo				
0 - 2,5	1,72 aB	2,26 aA	1,80 aB	2,30 aA
2,5 - 5,0	1,48 bC	2,23 aA	1,30 bD	1,82 bB
5,0 - 10,0	1,18 cC	2,19 aA	1,01 cD	1,35 cB
10,0 - 20,0	1,04 dB	1,89 bA	0,65 dD	0,91 dC
C.V. 4,54%				
Amônio				
mg NH ₄ ⁺ kg ⁻¹ solo				
0 - 2,5	1,54 aB	3,19 aA	2,02 abB	3,61 aA
2,5 - 5,0	1,51 aB	3,53 aA	2,95 aA	1,49 bB
5,0 - 10,0	0,59 bC	3,29 aA	1,48 bcB	0,61 cC
10,0 - 20,0	0,28 bB	1,14 bA	0,81 cAB	0,39 cB
C.V. 47,03%				
Nitrato				
mg NO ₃ ⁻ kg ⁻¹ solo				
0 - 2,5	2,62 aC	3,31 aBC	3,64 aB	4,64 aA
2,5 - 5,0	0,16 bB	1,73 bA	1,20 bA	1,70 bA
5,0 - 10,0	0,07 bC	0,88 cAB	0,35 cB	0,94 cA
10,0 - 20,0	<0,00	0,04 dA	0,03 cA	0,17 dA
C.V. 38,44%				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de probabilidade pelo teste T-student.

Sabe-se que a maior parte do N encontra-se estável na fração orgânica do solo. Encontramos uma alta correlação entre o carbono orgânico e o nitrogênio total do solo (Tabela 6). Já a fração mineral do N é instável no solo. Amônio, nitrito e nitrato são, em sua grande maioria, produtos resultantes da atividade

bioquímica exercida por grupos de microrganismos específicos (Stevenson, 1982). Foi verificada uma distribuição do amônio semelhante ao nitrogênio total, tanto na profundidade como na cronosequência. Já o nitrato não apresentou a mesma distribuição, encontrando-se sua maior concentração na camada mais superficial. Tal fato pode ser explicado pela ação do pH sobre os microrganismos envolvidos no processo de mineralização do nitrogênio. A influência da variação do pH sobre os microrganismos amonificadores é menor devido a heterogeneidade que compõem esse grupo fisiológico. Os microrganismos nitrificadores, mais limitados em número de espécies, são exigentes em pH próximo a neutralidade (Tsai et al., 1992). No entanto, a contribuição dos microrganismos heterotróficos que realizam a nitrificação não pode ser desprezada, pois os mesmos estão bem adaptados aos solos ácidos (Drozdowicz, 1997).

A concentração do nitrito foi menor que $0,001 \text{ mg Kg}^{-1}$ em todos os tratamentos, não sendo possível determiná-las pelo método de análise utilizado.

3.3.2 O comportamento da biomassa microbiana

A biomassa microbiana-C do CAN apresentou os maiores valores em todas as camadas analisadas (Tabela 5), enquanto que os menores valores foram verificados no PD20, também em todas as camadas. O PD20 apresentou menor gradiente de diminuição na profundidade de biomassa microbiana-C quando comparado com o PD10, sinalizando assim para uma distribuição mais uniforme na profundidade, como é encontrado nas áreas nativas. O PCN apresentou maiores valores de biomassa microbiana-C que os SPD devido, provavelmente, à recente correção da acidez e ao grande aporte de carbono orgânico incorporado ao solo. Sabe-se que a incorporação de material orgânico aumenta a biomassa microbiana (Ocio & Brookes, 1990; Wardle & Hungria, 1994; De-Polli & Guerra, 1996).

Observou-se uma diminuição da biomassa microbiana-C na cronossequência, principalmente nas duas primeiras camadas, na ordem de 20%, 36,8% e 57% na camada 0-2,5 cm e 25%, 49% e 56% na camada 2,5-5,0 cm para PCN, PD10 e PD20, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Staley et al. (1988), apesar de as áreas em estudo não serem semelhantes quanto à rotação de cultura. Os resultados obtidos por Carter & Rennie (1982) no Oeste do Canadá em áreas com 2, 4, 12 e 16 anos de plantio direto, também apontam na mesma direção dos aqui apresentados. Verificaram que a área de 16 anos apresentou a menor biomassa microbiana-C e biomassa microbiana-N. Por outro lado, Lima et al. (1994) não observou diferença significativa entre a biomassa microbiana-C no campo nativo e no SPD com 14 anos de adoção. Já os resultados obtidos no presente trabalho diferem entre campo nativo dos tratamentos PD10 e PD20 (Figura 3).

Figura 3. Biomassa microbiana-C e N em quatro diferentes profundidades na cronossequência, constituída por: Campo nativo (CAN); Preparo convencional sob campo nativo (PCN); Plantio direto deste 1989 (PD10); e Plantio direto deste 1979 (PD20). - Médias seguidas de mesma letra maiúscula na profundidade e minúscula entre profundidade não diferem estatisticamente a nível de 5% de probabilidade pelo teste T-student.

Carvalho (1997) comparando o SPD e o preparo convencional na região de Carambeí, PR verificou aumento da biomassa microbiana-C nas camadas 0–2,5 cm e 2,5–5 cm após seis anos de adoção do SPD. Outros autores, também relatam aumento da biomassa microbiana-C no SPD quando este é comparado a outros sistemas de manejo (Lynch & Panting, 1980; Silva Filho & Vidor, 1984; Domsch, 1985; Follett & Shimell, 1989; Lima et al., 1994; Fernandes, 1995; Balota et al., 1998).

A biomassa microbiana-C nesse estudo apresentou correlação linear positiva com pH, carbono total e biomassa microbiana-N, como pode-se constatar na Tabela 6.

A biomassa microbiana-N apresentou os maiores valores no CAN e no PCN em relação ao PD10 e PD20 quando se considera o perfil (Figura 3). Porém, na camada 0-2,5 cm não houve diferença significativa entre os tratamentos CAN, PD10 e PD20. Entre os tratamentos do SPD, não houve diferença significativa quanto à biomassa microbiana-N. Verificou-se um acentuado decréscimo do valor da biomassa microbiana-N com a diminuição da profundidade no PD10 e no PD20.

A maior quantidade de N microbiano pode indicar maior potencial de mineralização de nitrogênio (Mengel, 1996, Whitmore, 1996). Portanto, demonstra que esse potencial localiza-se na camada 0–2,5 cm dos tratamentos de SPD (Tabela 5).

A biomassa microbiana-N apresentou correlação positiva com o carbono e nitrogênio total e com a respiração basal. Chama atenção o ponto da biomassa microbiana-N ser o único índice microbiológico que não apresentou correlação com o pH na cronossequência. Portanto, quando se analisa tratamento por tratamento, verifica-se que a biomassa microbiana-N apresentou correlação $r=0,88^{***}$ e $r=0,90^{***}$ ($n=12$), somente com o PD10 e PD20, respectivamente.

Provavelmente, uma grande parte dos microrganismos do CAN e do PCN esteja adaptado ou protegidos em micro-sítios aos efeitos do pH.

A matéria orgânica do solo é composta da parte lábil e da parte resistente ou recalcitrante ao ataque de microrganismos. A biomassa microbiana faz parte do carbono orgânico lábil e é responsável pelo fluxo de carbono no solo, tanto na fase gasosa (CO_2) como na fase de carbono orgânico dissolvido. As mudanças na relação $C_{\text{mic}}:C_{\text{total}}$ refletem a qualidade do carbono orgânico que entra no solo, a eficiência da conversão do carbono microbiano, as perdas do carbono do solo e a estabilização do carbono orgânico pela fração mineral do solo (Sparling, 1992). Esta relação permite obter informações sobre a dinâmica do carbono no solo. Uma relação $C_{\text{mic}}:C_{\text{total}}$ alta indica acúmulo de carbono no solo, e uma relação $C_{\text{mic}}:C_{\text{total}}$ baixa, freqüentemente indica perda de carbono do solo (Insan & Domsch, 1989). Evidentemente cada solo estabelece sua relação de equilíbrio entre o carbono total e microbiano. McGrill et al. (1988), citado por Campbell et al. (1991), sugerem que a fração mais mineralizável do solo pode ser expressa, por exemplo, pela relação $C_{\text{mic}}:C_{\text{total}}$ ou relação $N_{\text{mic}}:N_{\text{total}}$. Os autores esperam que estas relações sejam mais dinâmicas do que a quantidade de biomassa microbiana C e N, respectivamente.

Os resultados obtidos na cronossequência indicam que há uma diminuição na relação $C_{\text{mic}}:C_{\text{total}}$ (Tabela 5). De acordo com os conceitos dos autores acima, esperava-se uma diminuição do C no solo, mas tal fato não foi verificado nas situações estudadas. Provavelmente a entrada de carbono via resíduo vegetal e sistema radicular seja maior que a mineralização anual do mesmo.

A relação $C_{\text{mic}}:C_{\text{total}}$ no PCN não apresentou diferença significativa entre as camadas. Na cronossequência a relação $C_{\text{mic}}:C_{\text{total}}$ não apresentou nitidamente uma estratificação na profundidade como verificou-se para o carbono total nos tratamentos analisados. Apresentou, porém correlação linear positiva com a

biomassa microbiana-C, a relação $C_{mic}:N_{mic}$, e a relação $N_{mic}:N_{total}$; com o pH e qCO_2 apresentou correlação linear negativa (Tabela 6). Observa-se nesse índice uma associação positiva com a quantidade e qualidade da microbiota e a quantidade de nitrogênio imobilizado, e uma associação negativa com o pH e com a perda de carbono por unidade de biomassa ou seja na eficiência da conservação do carbono na biomassa.

Tabela 5 . Relação C/N da biomassa microbiana ($C_{mic}:N_{mic}$); relação C/N do solo ($C_{solo}:N_{solo}$); relação carbono microbiano: carbono total ($C_{mic}:C_{total}$) e relação nitrogênio microbiano e nitrogênio total ($N_{mic}:N_{total}$) em quatro diferentes profundidades na cronossequência constituída por: Campo nativo (CAN); Preparo convencional sob campo nativo (PCN); Plantio direto deste 1989 (PD10); e Plantio direto deste 1979 (PD20).

Profundidade	CAN	PCN	PD10	PD20
cm	Relação $C_{mic}:N_{mic}$			
0 – 2,5	4,30 abA	4,30 aA	3,29 bB	2,03 cC
2,5 – 5,0	4,67 aA	3,50 aB	3,63 bB	3,34 bB
5,0 – 10,0	5,13 aA	3,65 aBC	3,26 bC	4,10 bB
10,0 – 20,0	3,79 bB	3,70 aB	5,84 aA	5,73 aA
C.V. 14,15%	Relação $C_{solo}:N_{solo}$			
0 – 2,5	16,22 bA	15,36 aA	12,14 bB	12,66 bB
2,5 – 5,0	16,78 bA	15,28 aB	13,09 abC	12,99 bC
5,0 – 10,0	16,80 bA	15,18 aB	12,90 abC	12,65 bC
10,0 – 20,0	18,08 aA	14,97 aB	13,87 aC	17,51 aA
C.V. 4,61%	Relação $C_{mic}:C_{total}$ $\mu g C_{mic} : mg C_{total}$			
0 – 2,5	23,19cA	14,83 aC	18,67 bB	9,54 bD
2,5 – 5,0	26,05 bA	14,17 aC	19,22 bB	11,91 abC
5,0 – 10,0	33,62 aA	15,06 aB	13,20 cB	14,40 aB
10,0 – 20,0	24,52 bcA	16,28 aB	24,21 aA	13,21 aC
C.V. 10,24%	Relação $N_{mic}:N_{total}$ $\mu g N_{mic} : mg N_{total}$			
0 – 2,5	87,40 bA	52,87 aC	69,35 abB	59,33 aBC
2,5 – 5,0	94,13 bA	62,33 aBC	71,71 aB	50,84 abC
5,0 – 10,0	108,88 aA	63,08 aB	59,99 abB	44,16 bC
10,0 – 20,0	116,96 aA	65,79 aB	57,15 bB	40,34 bC
C.V. 13,15%				

As médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de probabilidade pelo teste T-student.

A relação $N_{mic}:N_{total}$ apresentou o mesmo comportamento da relação $C_{mic}:C_{total}$ na cronossequência. O CAN apresentou os maiores valores dessa relação, principalmente nas duas últimas camadas (Tabela 5). No PCN não foram verificadas diferenças significativas entre as camadas. Verificou-se no PD10 e no PD20 uma discreta diminuição na relação $N_{mic}:N_{total}$ referente à profundidade.

Biederbeck et al. (1984) e Campbell et al. (1992) verificaram que o aumento em ambas as relações $C_{mic}:C_{total}$ e $N_{mic}:N_{total}$ ocorreram quando os tratamentos estudados não receberam fertilizante nitrogenado. Nesse trabalho, os tratamentos que receberam mais fertilizante apresentaram menores valores na relação $C_{mic}:C_{total}$ e na relação $N_{mic}:N_{total}$. Portanto, os dados aqui obtido, estão de acordo com os observados pelos autores acima.

A relação $N_{mic}:N_{total}$ apresentou correlação linear positiva com a biomassa microbiana-N, biomassa microbiana-C, relação $C_{mic}:C_{total}$, e relação $C_{mic}:N_{mic}$ (Tabela 6).

A relação $C_{mic}:N_{mic}$, nas camadas 0–2,5 cm e 2,5–5 cm, apresentou diminuição em relação à cronossequência. No PD20, a relação $C_{mic}:N_{mic}$ aumentou com a profundidade, diferenciando-se dos demais tratamentos por não ter ocorrido o mesmo fato. Os maiores valores foram obtidos na camada 10–20 cm do PD10 e do PD20.

Segundo Blagodatsky & Richter (1998), as relações $C_{mic}:N_{mic}$ são flexíveis e dependente do nitrogênio disponível. A eficiência da biossíntese microbiana e manutenção da respiração são controladas pela relação $C_{mic}:N_{mic}$ e o estado da atividade da biomassa. Nicolardot et al. (1983), estudando microrganismos marcados com ^{15}N com diferentes relações C/N, observaram que a taxa de mineralização está fortemente relacionada com a relação $C_{mic}:N_{mic}$. Observa-se na camada 0–2,5 cm do PD10 e do PD20 onde ocorreram as menores relações $C_{mic}:N_{mic}$, obteve-se maior conteúdo de nitrato, de biomassa microbiana-N, de qCO_2 e de respiração basal, indicando onde encontra-se condições ideais de

pH; de fonte de energia; de nutrientes disponíveis e uma estreita relação $C_{mic}:N_{mic}$ a biomassa microbiana será mais ativa, que poderá resultar em “turnover” mais rápido da biomassa microbiana e consequentemente maior frequência de nutrientes disponíveis para a planta.

Diversos autores, quando comparam o SPD com os demais sistemas, chegam à conclusão que ele é imobilizador temporário de nitrogênio na camada superficial (Doram, 1980; Carter & Rennie, 1982; Follett & Schimel, 1989). Entretanto, com o tempo de adoção do SPD, a cinética de composição do nitrogênio pode mudar na medida que diminui a relação $C_{mic}:N_{mic}$ e aumenta o teor de carbono solúvel (Blagodatsky et al., 1998).

A relação $C_{mic}:N_{mic}$ foi o índice que apresentou significativo número de correlações possíveis entre as variáveis analisadas. Obteve-se correlação positiva com a biomassa microbiana-C, relação $C_{mic}:C_{total}$, relação $N_{mic}:N_{total}$, relação $C_{solo}:N_{solo}$ e correlação negativa com pH, nitrato, respiração basal e qCO_2 (Tabela 6).

A relação $C_{solo}:N_{solo}$ foi maior no campo nativo em todas as camadas e menor no PD10 e no PD20, exceto na camada 10-20 cm do PD20 (Tabela 5). Entre PD10 e PD20 não ocorreu diferença significativa nas três camadas superiores.

Wardle (1998) realizou uma revisão sobre os fatores que controlam a variabilidade temporal da biomassa microbiana. A relação $C_{solo}:N_{solo}$ não mostrou correlação significativa com a variabilidade temporal da biomassa microbiana, nos diversos trabalhos analisados. Outros autores, também relatam a não existência da correlação entre a relação $C_{solo}:N_{solo}$ e as mudanças na microbiota e a qualidade do solo causado pelos fatores antrópicos (Carter & Rennie, 1982; Wardle & Hungria, 1994). Entretanto, neste estudo a relação $C_{solo}:N_{solo}$ apresentou correlação linear positiva com a biomassa microbiana-C, relação $C_{mic}:N_{mic}$, e correlação linear negativa com pH e qCO_2 (Tabela 6).

Tabela 6. Análise da correlação linear (r) entre os diversos parâmetros analisados na cronossequência.

	PH	N-total	C-total	Amônio	Nitrato	Biom-N	Biom-C	Resp.	qCO_2	C_{mic}/C_{total}	C_{mic}/N_{mic}	N_{mic}/N_{total}	C_{solo}/N_{solo}
pH	-	- ^a	-	-	0,61	-	-0,60	0,60	0,77	-0,53	-0,63	-0,49	-0,74
N-total	-		0,93	0,67	0,65	0,67	-	0,70	0,49	-	-	-	-
C-total	-	0,93		0,58	-	0,74	0,56	0,55	-	-	-	-	-
Amônio	-	0,67	0,58		0,50	-	-	0,59	0,50	-	-	-	-
Nitrato	0,61	0,65	-	0,50		-	-	0,81	0,73	-	-0,50	-	-0,41
Biom-N	-	0,67	0,74	-	-		0,77	0,40	-	-	-	0,58	-
Biom-C	-0,60	-	0,56	-	-	0,77		-	-	0,58	0,52	0,63	0,53
Resp.	0,60	0,70	0,55	0,59	0,81	0,40		-	0,86	-	-0,51	-	-
qCO_2	0,77	0,49	-	0,50	0,73	-	-	0,86	-	-0,56	-0,60	-	-0,50
C_{mic}/C_{total}	-0,53	-	-	-	-	-	0,58	-	-	0,87	-	0,73	-
C_{mic}/N_{mic}	-0,63	-	-	-	-0,50	-	0,52	-0,51	-	0,87	-	0,72	0,53
N_{mic}/N_{total}	-0,49	-	-	-	-	0,58	0,63	-0,60	-	0,73	-	-	0,49
C_{solo}/N_{solo}	-0,74	-	-	-	-0,41	-	0,53	-0,50	-	-	-	0,49	-

Resp. = Respiração basal; Biom-N = Biomassa microbiana-N; Biom-C = Biomassa microbiana-C.

 $P < 0,01$; $n = 48$ ^a Não houve significância da r a $P = 0,01$

3.3.3 A atividade da biomassa microbiana

A respiração basal do solo é um indicador sensível da qualidade do carbono orgânico disponível ao ataque dos microrganismos heterotróficos (Shen-Min et al., 1987). Uma maior emissão de CO₂ por unidade de peso de solo indicaria a presença de substrato assimilável para o desenvolvimento da biomassa microbiana. O CAN apresentou os menores valores de respiração basal, com distribuição mais uniforme nas três últimas camadas. Os demais tratamentos apresentaram respiração basal significativamente maior nas camadas 0 –2,5 cm e 2,5 –5 cm (Tabela 7).

Tabela 7. Quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) e respiração basal solo em quatro diferentes profundidades na cronossequência constituída por: Campo nativo (CAN); Preparo convencional sob campo nativo (PCN); Plantio direto deste 1989 (PD10); e Plantio direto deste 1979 (PD20).

Profundidade cm	CAN	PCN	PD10	PD20
	$q\text{CO}_2$			
0 - 2,5	2,71 aC	6,77 aB	8,03 aB	13,72 aA
2,5 – 5,0	1,49 abB	4,21 bA	5,27 bA	4,85 bA
5,0 – 10,0	1,05 bC	2,42 cBC	4,94 bA	2,90 cB
10,0 – 20,0	1,15 bB	2,52 cAB	1,93 cAB	3,25 cA
C.V. 25, 41%				
	Respiração basal mgCO ₂ g ⁻¹ solo 10d ⁻¹			
0 - 2,5	0,38 aB	0,84 aA	0,78 aA	0,91 aA
2,5 – 5,0	0,23 bC	0,49 bA	0,41 bAB	0,33 bBC
5,0 – 10,0	0,17 bA	0,29 cA	0,20 bcA	0,17 cA
10,0 – 20,0	0,13 bB	0,27 cA	0,10 cB	0,16 cAB
C.V. 25,65%				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de probabilidade pelo teste T-student.

Observou-se uma diminuição dos valores respiração basal mais acentuada com a profundidade no PD10 e no PD20 quando comparada com os demais tratamentos. A respiração basal no PD20 apresentou uma diminuição nas camadas inferiores, que pode indicar o acúmulo de carbono orgânico resistente ao ataque dos microrganismos. Nesse sentido, Alvarez et al. (1995) verificaram também

uma diminuição brusca na respiração basal da camada 0–5 cm para as camadas inferiores no SPD e uma estreita relação entre biomassa microbiana-C e respiração basal.

No presente trabalho a respiração basal apresentou correlação linear positiva com pH, nitrogênio total, amônio, nitrato, biomassa microbiana-N e correlação linear negativa com a relação $C_{mic}:N_{mic}$ (Tabela 6).

Baseado na teoria de Odum, chamada de sucessão ecológica, nos ambientes mais estáveis o carbono passa para níveis tróficos superiores, conservando-se no ecossistema (Insam & Haselwandter, 1989). Portanto, como o quociente metabólico (qCO_2) é a quantidade de CO_2 liberado por unidade de biomassa microbiana-C, pode-se concluir que quanto menor o qCO_2 , mais eficiente é a biomassa microbiana, conservando o carbono no solo. O CAN apresentou menor qCO_2 em relação aos demais tratamentos, pois segundo essa teoria, o campo nativo constitui um ecossistema mais estável em relação às áreas cultivadas. Por outro lado, o estresse causado pelo baixo pH e pela falta de nutrientes no solo, podem ser outras causas do baixo qCO_2 apresentado pelo CAN (Wardle & Ghani, 1995), uma vez que o qCO_2 é um sensível indicador de estresse (Anderson, 1994).

O qCO_2 foi maior na camada 0–2,5 cm em todos os tratamentos, assim como a respiração basal. Esses dados relacionam-se com a maior mineralização do carbono nessa camada, principalmente nos tratamentos PCN, PD10 e PD20. O qCO_2 diminuiu com a profundidade, tendo a diminuição mais acentuada nos tratamentos PD10 e PD20 (Tabela 7).

Segundo Ocio & Brookes (1990) a incorporação de resíduos vegetais no solo aumenta o qCO_2 , o qual está associado com a maior disponibilidade de carbono para microbiota. Esse efeito foi verificado no tratamento PCN, como já relatado, ocorreu incorporação de resíduos, o mesmo apresentou aumento do qCO_2 significativo em relação ao CAN.

Na camada 0–2,5 cm, o $q\text{CO}_2$ apresentou aumento na cronossequência. Entretanto, o conteúdo de carbono na biomassa microbiana diminui. Segundo Santruckuva & Straskraba (1991) existe uma relação inversa entre os níveis de biomassa microbiana e o $q\text{CO}_2$. Os resultados obtidos nas camadas 0–2,5cm, 2,5–5cm e 5–10cm confirmaram esta relação inversa, pois apresentaram uma alta correlação linear negativa na cronossequência, com $r = -0.90^{**}$; $r = -0,83^{**}$ e $r = -0,70^{**}$ ($n=12$), respectivamente.

O $q\text{CO}_2$ apresentou correlação linear positiva com pH, amônio, nitrato e respiração basal, e correlação linear negativa com a relação $C_{\text{mic}}: C_{\text{total}}$, relação $C_{\text{mic}}: N_{\text{mic}}$ e relação $C_{\text{solo}}: N_{\text{solo}}$ (tabela 6).

3.4 CONCLUSÃO

Esse estudo permite concluir que o tempo de adoção do SPD tem efeito na microbiota e na sua atividade. Pode-se comprovar através das alterações das variáveis microbiológicas analisadas, como a diminuição da biomassa microbiana-C, da relação $C_{\text{mic}}: C_{\text{solo}}$, da relação $N_{\text{mic}}: N_{\text{solo}}$, e o aumento da respiração basal, do $q\text{CO}_2$ e da relação $C_{\text{mic}}: N_{\text{mic}}$ na cronossequência. O tempo de adoção do SPD aumenta os teores de C-total, N-total, amônio e nitrato. A diminuição na biomassa microbiana-C, sem alteração na biomassa microbiana-N nos dois tratamentos do SPD, faz suspeitar que com o passar do tempo de adoção do sistemas ocorrem alterações na estrutura da comunidade microbiana. Por conseguinte, alterar a dinâmica de mineralização da matéria orgânica. Sugere-se novos estudos na estrutura da comunidade microbiana do SPD para esclarecer dados aqui obtidos.

QUANTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA, AVALIAÇÃO DA COLONIZAÇÃO POR FUNGOS MICORRÍZICOS E NODULAÇÃO EM UMA CRONOSSEQUÊNCIA SOB SISTEMA PLANTIO DIRETO

RESUMO

O efeito do tempo de adoção do sistema plantio direto [SPD] sobre a microbiota, colonização por fungos micorrízicos arbusculares em milho e soja, e nodulação em soja foram avaliados em uma latossolo vermelho escuro no município de Tibagi, PR. As áreas estudadas constituem uma cronossequência de: 1) um campo nativo [CAN]; 2) área cultivada no sistema convencional sobre o campo nativo por um ano [PCN]; 3) SPD adotado desde 1989 [PD10[†]]; 4) SPD adotado desde 1979 [PD20]. A população bacteriana e fúngica, além dos microrganismos amonificadores e nitrificadores não demonstraram alterações com o tempo de adoção do SPD. Os fungos e os microrganismos nitrificadores demonstraram alterações com o início da exploração da terra. A porcentagem de colonização de raízes por fungos micorrízicos arbusculares e a nodulação foram beneficiadas com o tempo de adoção do SPD. A colonização no milho e na soja aumentaram de 23% e 18% no CN para 66% e 55% no PD20, respectivamente.

SUMMARY

The effects of long-term no-tillage system [NT] on the microbial population, percentage of mycorrhizae colonization in corn and soybean roots, and formation of nodules in soybean roots was evaluated in a latosol, Tibagi, Paraná State, Brazil. The studied areas constitute a chronosequence of: 1) an area covered with the native vegetation [NV]; 2) an area cultivated for 1 year under conventional tillage over the native vegetation [CT]; 3) an area cultivated since 1989 under NT [NT10]; and 4) an area cultivated since 1979 under NT [NT20]. The fungal and bacterial population, the microorganisms responsible for the ammonification, as well as the ammonium-oxidizing and nitrite-oxidizing ones did not show quantitative changes in the long-term NT. The ammonium-oxidizing, nitrite-oxidizing and fungi population revealed quantitative changes due to the beginning of exploitation. The percentage of root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi and nodulation increased in the long term NT. Corn and soybean increased from 18% and 22% in CN, to 66% and 55% in PD20, respectively.

4.1 INTRODUÇÃO

A comunidade microbiana que vive no solo e as transformações por ela promovidas exercem efeitos diretos e indiretos na produtividade e na qualidade dos produtos agrícolas. O conhecimento da estrutura populacional e sua participação nos ciclos biogeoquímicos dos nutrientes é necessário para o manejo apropriado do solo e para o uso racional de recursos naturais e insumos manufaturados. Tal fato é importante, especialmente no que se referem aos fertilizantes químicos e aos xenobióticos, que contribuem para a elevação dos custos e podem representar ameaças ao meio ambiente se não forem utilizados adequadamente.

No sistema plantio direto (SPD) a ausência do revolvimento do solo e a manutenção dos resíduos culturais na superfície proporciona o acúmulo de material orgânico (Lal, 1976; Muzilli, 1981; Dick, 1983), que é fonte primária de carbono e energia para a grande maioria dos microrganismos. Com o aumento da biomassa microbiana, podem ocorrer mudanças na estrutura populacional e/ou mudanças nos padrões metabólicos. Conhecendo essas mudanças e seus efeitos no sistema solo-planta pode-se aperfeiçoar o manejo do solo e otimizar os recursos naturais e manufaturados. Para tanto, são necessários conhecimentos mais aprofundados da comunidade microbiana e de suas inter-relações, além de seus processos bioquímicos.

Diversos autores relatam mudanças na microbiota do solo com o uso de diferentes sistemas de manejos ou rotação de culturas. Doran (1980) estudou o efeito do manejo do solo na composição microbiana comparando SPD e preparo convencional. Esse autor observou que o SPD favoreceu grupos de microrganismos na camada 0–7,5 cm do solo com funções metabólicas definidas, como os nitrificadores (oxidantes de NH_4^+), os nitratores (oxidantes de NO_2^+) e os desnitrificadores. Castro et al. (1993) também estudaram o efeito do manejo do solo e de culturas sobre a atividade de *Bradyrhizobium japonicum* e de outros microrganismos importantes na ciclagem de nutrientes do solo, conduzindo o experimento por oito anos no Centro Experimental de Campinas do Instituto Agronômico. Os resultados obtidos revelaram que o solo sob plantio direto e o sistema de rotação elevaram significativamente a nodulação e a populações de microrganismos celulolíticos.

Cattelan et al. (1997a), estudaram os efeitos de oito sistemas de rotação no SPD, como soja e milho no verão e trigo, aveia e/ou tremoço-branco no inverno sobre a microbiota do solo durante três anos, concluíram que o teor de carbono no solo e a disponibilidade de água favoreceram os microrganismos e a diminuição da acidez estimulou o desenvolvimento dos mesmos.

Andrade et al (1993), assim como Balota et al. (1996) verificaram que vários grupos de microrganismos foram favorecido pelo SPD em relação ao preparo convencional, entre eles: bactérias fixadora de nitrogênio associativa (*Azospirillum spp*); *Bradyrhizobium sp*; nitrificadores e solubilizadores de fosfatos em um estudo de rotação de culturas em SPD com 14 anos, na estação experimental do IAPAR – Londrina-PR. Por outro lado, Silva Filho & Vidor (1984) constataram que o sistema de preparo do solo não alterou sensivelmente a população microbiana estudada, que foi no entanto estimulada pelo cultivo de pastagem e rotação de culturas.

O presente trabalho tem como objetivo contribuir com a compreensão do efeito do tempo de adoção SPD sobre alguns grupos de microrganismos conhecidos e que exercem funções importantes no ciclo biogeoquímico dos nutrientes e na absorção de fósforo e de nitrogênio pelas plantas.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Áreas de Estudo

As áreas estudadas localizam-se na fazenda Santa Branca, situada no município de Tibagi, Estado do Paraná. Essa fazenda começou suas atividades agrícolas cultivando arroz sequeiro no ano de 1959 e mais tarde se tornou uma das pioneira na adoção do sistema plantio direto no Brasil. No ano de 1975 foi realizado o primeiro plantio direto de soja na fazenda. Desde então, a cada ano novas áreas foram sendo incorporadas chegando, a 100% da área plantada em 1983 (Miranda,1983). O Histórico das áreas, época e plano de amostragem no campo e preparo das amostras de solo encontram-se descritos no capítulo 3 desse trabalho.

4.2.2 Experimento em casa de vegetação

Foi instalado experimento em casa de vegetação para quantificação da porcentagem de colonização de fungos micorrízicos arbusculares em milho e soja, e do número e massa seca de nódulos na soja.

As amostras de solo das quatro profundidades dos tratamentos foram misturadas e colocadas em vasos de cinco litros para milho e três litros para soja. A cultivar de milho plantada foi Pioneer 3063, adubada com 350 kg/ha da fórmula 10-20-20 e mais 100 kg de N aplicado no estágio fenológico da 6ª folha. A cultivar de soja plantada foi IAC-82, adubada com 300 kg/ha da fórmula 00-20-20 e inoculada com *Bradyrhizobium japonicum* (estirpe CB1809).

No início do estágio de floração as plantas foram colhidas, as raízes foram lavadas em água e armazenadas em frascos contendo solução de AFA (13 mL de formol + 5 mL ácido acético + 200 mL de etanol 50 %) para análise (Colozzi-Filho & Bolota, 1994). As raízes de soja antes de serem armazenadas tiveram seus nódulos coletados para serem contados e secos a 35°C e posteriormente pesados.

4.2.3 Delineamento experimental

Para bactérias, fungos, amonificadores e nitrificadores (nitritadores e nitratadores) foi utilizado o delineamento experimental que encontra-se no capítulo 3 desse trabalho.

O experimento instalado em casa de vegetação foi na forma de delineamento inteiramente aleatório, constando de quatro tratamentos (CAN, PCN, PD10, PD20) e cinco repetições, totalizando 20 amostras de cada cultura (milho e soja). Os resultados foram submetidos à análise de variância, e para comparação das médias foi usado o teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.4 Análises Microbiológicas

4.2.4.1 Quantificação das bactérias e dos fungos

Na determinação de bactérias e de fungos foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP) em plaqueamento de gotas (Jahnel, 1997) com cinco réplicas, fazendo-se diluição em série à extinção. As diluições foram feitas utilizando-se 10 g de solo suspenso em 90 mL de solução salina à 0,85%. Os frascos foram agitados por 10 minutos em agitador circulante. A partir deste frasco foram preparadas as diluições, para fungos a partir da diluição 10^{-1} até 10^{-4} e para bactérias a partir da diluição 10^{-3} até 10^{-7} . Em seguida, foi tomada uma alíquota de 0,1 ml com auxílio de micropipeta em tubos contendo 0,9 mL de meio agarizado a 1% mantidos em banho maria a 45°C. Os meios utilizados foram o Martin para fungos e o meio de nutriente agár para bactérias (Menzies, 1965 e Parkinson et al., 1971). O plaqueamento foi feito com gotas de meio de culturas com alíquotas de 0,040 mL. As amostras foram incubadas a 28°C por 48 horas. Após este período foram feitas as observações da presença das unidades formadoras de colônias (Figura 4). O NMP foi obtido utilizando-se tabela de probabilidade de ocorrência (Tabela de McCrady).

Figura 4. Método de plaqueamento em gotas

4.2.4.2 Quantificação dos microrganismos amonificadores

A determinação dos microrganismos amonificadores foi através da técnica do NMP. Amostras de solo foram misturadas em solução salina de NaCl (0,85%) e a suspensão diluída até 10^{-7} . Aliquotas de 1 mL de cada diluição foram adicionadas aos tubos de ensaio contendo meio de Sarathchandra (Andrade et al., 1994) com cinco réplicas. Os tubos foram então incubados em sala climatizada a 28°C no escuro, durante cinco dias. A presença de formação de amônia foi detectada pelo reativo de Nessler. Utilizou-se a Tabela de McClack para obter o NMP de amonificadores.

4.2.4.3 Quantificação dos microrganismos nitrificadores

Os microrganismos nitrificadores foram determinados pela técnica do NMP. Amostras de solo foram misturadas em solução salina de NaCl (0,85%) e a suspensão diluída até 10^{-5} . Aliquotas de 1 mL de cada diluição foram adicionadas aos tubos de ensaio contendo o meio descritos por Soriano & Walker (citado por Andrade et al., 1994) com cinco réplicas. Os tubos foram incubados em sala climatizada a 28°C no escuro sob agitação, durante três semanas. A cada semana foi verificado a presença de nitrito e nitrato, detectado pelos reagentes de Griss-Ilosvay (Alexandre & Clark, 1982). Utilizou-se a Tabela de McClack para obter o NMP de nitrificadores.

4.2.4.4 Quantificação da porcentagem de colonização dos fungos micorrízicos arbusculares

A determinação da colonização micorrízica foi realizada pela observação da presença de estruturas fúngicas dentro das raízes na região do córtex. Para tal, utilizou-se o método de coloração proposto por Philips & Hayman (1970) adaptado, que consistiu em lavar as raízes com água de torneira para retirada do AFA. Imergiu-se as amostras de raízes em solução de KOH 10% por 50 minutos

a 90°C em banho-maria. Lavou-se novamente as raízes em água de torneira e imergiu-se as mesmas em solução de HCl 1% por 10 minutos. Descartou-se a solução de HCl, e adicionou-se o corante lactoglicerol com azul de tripano 0,05%, permanecendo por 5 a 10 minutos em banho-maria a 90°C. Descartou-se o excesso do corante e adicionou-se lactoglicerol incolor para conservação e avaliação das raízes com auxílio de uma lupa pelo método da placa quadriculada (Giovanetti & Mosse, 1980).

4.2.4.5 Quantificação do número e massa seca dos nódulos

Os nódulos formados nas raízes de soja foram retirados e secos a 35°C durante três dias. Em seguida, eles foram pesados e contados.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantificação das bactérias e fungos não apresentou interação entre a cronossequência e a profundidade quando foi aplicada a análise de variância (Tabela 8). A média das bactérias e dos fungos diminuiu 12% com o aumento da profundidade. Não houve diferença significativa entre as médias das bactérias na cronossequência, mas houve diferença nas médias dos fungos. O PCN apresentou maior média de fungos que os demais tratamentos. Entre os tratamentos SPD (tratamento PD10 e PD20) não foram observadas diferenças significativas em relação as populações de bactérias e dos fungos. Silva Filho & Vidor (1984), verificaram que não houve alterações significativas do efeito do sistema de preparo do solo (plantio direto e preparo convencional) sobre as populações de bactérias e de fungos. Cattelan et al. (1997b) estudaram sete sistemas de preparo do solo, em latossolo roxo distrófico. Verificaram que as bactérias sofreram alterações quantitativas, enquanto os fungos não foram afetados pelos diferentes sistemas.

Castro et al. (1993) e Fernandes (1995) estudaram os efeitos do manejo do solo e das culturas sobre os microrganismos e sua atividade em um solo classificado como latossolo roxo distrófico. Esses autores, verificaram também, que não ocorreram diferenças significativas nas populações das bactérias e dos fungos. Segundo Fernandes (1995), no SPD houve uma tendência de maior quantidade de fungos na camada superficial do solo causado pelo acúmulo de resíduo na superfície do mesmo. O mesmo ocorreu na cronossequência estudada neste trabalho.

Tabela 8. Quantificação de bactérias e fungos totais pelo número mais provável em quatro diferentes profundidades na cronossequência constituída por: Campo nativo (CAN); Preparo convencional sob campo nativo (PCN); Plantio direto deste 1989 (PD10); e Plantio direto deste 1979 (PD20).

Profundidade	CAN	PCN	PD10	PD20	
cm	Bactérias (Log NMP)				Média
0 - 2,5	6,50	7,10	7,11	7,04	6,94 a
2,5 - 5,0	6,68	6,87	6,53	6,64	6,68 b
5,0 - 10,0	6,58	6,31	6,45	6,47	6,45 b
10,0 - 20,0	6,00	6,08	6,40	5,87	6,09 c
Média	6,44 A	6,59 A	6,62 A	6,51 A	C.V. 4,72%
	Fungos (Log NMP)				
0 - 2,5	5,08	5,31	5,27	5,11	5,19 a
2,5 - 5,0	4,73	5,48	5,07	4,99	5,07 a
5,0 - 10,0	4,43	5,15	4,27	4,32	4,54 b
10,0 - 20,0	4,22	4,73	3,92	4,05	4,23 c
Média	4,61 B	5,17 A	4,63 B	4,62 B	C.V. 6,63%

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de probabilidade pelo teste T-student.

A quantidade de bactérias e de fungos no tratamento CAN, na ordem de 6,44 e 4,61 log NMP respetivamente, apresentou-se de forma similar aos tratamentos dos SPD. No entanto, poder-se-ia esperar uma maior população de bactérias e fungos no CAN, devido ao efeito rizosférico que se sabe existir nessas pastagens permanentes de gramíneas (Rovira, 1978). No trabalho de Cattelan & Vidor (1990) o campo nativo também apresentou a menor quantidade de bactérias

de bactérias quando comparado com outros tratamentos. Já no trabalho de Silva Filho & Vidor (1984), a população bacteriana foi superior e a população fúngica inferior, no que se refere ao campo nativo em relação ao SPD.

Tabela 9. Quantificação de microrganismos amonificadores, nitritadores, nitratores por número mais provável em quatro profundidade na cronossequência constituída por: Campo nativo (CAN); Preparo convencional sob campo nativo (PCN); Plantio direto deste 1989 (PD10); e Plantio direto deste 1979 (PD20).

Profundidade	CAN	PCN	PD10	PD20	
cm	Amonificadores (Log NMP)				Média
0 - 2,5	4,67 aB	5,95 aA	5,22 aAB	5,18 aAB	5,25
2,5 - 5,0	4,40 aA	5,18 abA	5,15 aA	5,24 aA	4,99
5,0 - 10,0	4,60 aAB	4,39 bB	5,44 aA	4,56 abAB	4,75
10,0 - 20,0	5,16 aA	4,39 bB	4,62 aAB	4,28 bB	4,61
Média	4,71 A	4,98 A	5,11 A	4,82 A	C.V.13,20%
	Nitritadores (Log NMP)				
0 - 2,5	3,77 abB	4,97 bA	4,28 aAB	4,83 aA	4,46
2,5 - 5,0	4,62 aA	4,80 bA	4,61 aA	4,46 aA	4,62
5,0 - 10,0	3,98 abB	5,99 aA	4,15 aB	4,01 aB	4,53
10,0 - 20,0	2,62 bB	3,69 cA	4,28 aA	3,97 aA	3,64
Média	3,75 C	4,86 A	4,33 B	4,32 B	C.V. 4,99%
	Nitratores (Log NMP)				
0 - 2,5	3,77 aC	4,79 aA	4,27 aB	3,72 bC	4,14
2,5 - 5,0	4,06 aA	4,42 abA	3,88 abB	4,34 aA	4,18
5,0 - 10,0	3,92 aAB	4,10 bAB	4,15 aA	3,63 bB	3,95
10,0 - 20,0	2,10 bB	4,00 bA	3,61 bA	3,63 bA	3,34
Média	3,47 C	4,33 A	3,98 B	3,83 B	C.V 8,53%

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de probabilidade pelo teste T-student.

A quantificação dos microrganismos amonificadores não apresentou alterações significativas nas camadas 0–2,5 cm e 2,5–5 cm na cronossequência (Tabela 9). O CAN apresentou a menor quantidade de amonificadores nas camadas 0–2,5 cm e 2,5–5 cm em relação os tratamentos do SPD, apesar das diferenças observadas não serem significativas. Já em relação à profundidade, nos tratamentos CAN e PD10 a quantidade de amonificadores não diminuiu com a

mesma. No PCN e no PD20 a quantidade de amonificadores diminuiu com a profundidade, apresentando diferença estatística na camada 5–10 cm.

Andrade et al. (1993) observaram que a quantidade de amonificadores não diferiu entre o SPD com 17 anos e o preparo convencional como também com a rotação de culturas estudada. Castro et al. (1993) observaram valores de amonificadores semelhantes entre o SPD e o preparo convencional. Conclui-se que os microrganismos amonificadores são pouco afetados com o tipo de manejo que é empregado no solo. Isso pode ser explicado pela diversidade de microrganismos amonificadores que habitam o solo, pertencentes a diversos grupos taxonômicos, com capacidade de produzir as enzimas proteases extracelulares. Essas enzimas tem por finalidade utilizar as proteínas e os ácidos nucléicos dos resíduos vegetais e dos próprios microrganismos mortos como fonte de nitrogênio (Drozdowicz, 1997).

Os microrganismos nitritadores e os nitratadores, responsáveis pela nitrificação do solo, apresentaram-se em menor quantidade no CAN e maior no PCN (Tabela 9). No PD20, os nitritadores apresentaram uma diminuição com a profundidade na ordem de 4,83 log NMP até 3,97 log NMP, apesar de não ser significativa, o que já não ocorreu com os nitratadores, que não apresentaram tal tendência. Doram (1980), pesquisando as mudanças na bioquímica e na microbiologia do solo, observou uma razão para os nitritadores de 1,25 e para os nitratadores de 1,58 na camada 0 – 7,5 cm entre o SPD e o preparo convencional. Andrade et al. (1993) observaram aumento dos microrganismos nitrificadores no SPD com 17 anos quando comparado ao preparo convencional. Em contraste, Castro et al. (1993) não observaram diferenças significativas dos nitritadores e nitratadores entre o SPD e o preparo convencional.

Quando observa-se as médias dos microrganismos nitritadores e nitratadores nos tratamentos, o CAN apresenta a menor quantidade desses microrganismos e o PCN a maior quantidade. Entre os tratamentos do SPD não

ocorreram diferenças significativas entre as médias. Entretanto, parece convincente que as alterações provocadas no solo com o início da exploração agrícola afetam os microrganismos nitrificadores, causando o aumento de sua população. O estresse provocado, principalmente pelo pH, é a principal causa limitadora do aumento dessa população (Pereira, 1982; Giller, 1995). Não foi possível observar alterações quanto a quantidade de microrganismos nitrificadores com o tempo de adoção do SPD.

Figura 5. Porcentagem de colonização dos fungos micorrízicos em raízes de milho e soja em uma cronossequência constituída por: Campo nativo (CAN); Preparo convencional sob campo nativo (PCN); Plantio direto deste 1989 (PD10); e Plantio direto deste 1979 (PD20) – Médias entre os tratamentos seguida de mesma letra minúscula, para o milho, e maiúscula, para a soja, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%. C.V. 23,7% para o milho e 36,5% para a soja.

As plantas de milho e soja apresentaram alta porcentagem de colonização por fungos micorrízicos arbusculares (Figura 5). Entretanto, alguns trabalhos que estudaram a porcentagem de colonização apresentaram dados bastantes discrepantes entre si. Foram encontrados valores de 0% a 90% (Castro et al., 1993; Fernandes, 1995), sendo que essa colonização variava quantitativa e qualitativamente de acordo com o agrossistema.

Observou-se claramente um aumento de colonização dos fungos micorrízicos na cronossequência nas duas espécies utilizadas. Apesar dos solos cultivados nos SPD receberem anualmente altas quantidades de fertilizantes, principalmente fósforo, não ocorreu diminuição dos fungos micorrízicos. Pelo contrário, observou-se um aumento como mostrado na Figura 5. Alguns fatores que favorecem os fungos micorrízicos no SPD devem ser destacados, tais como: o aumento do carbono orgânico, o não revolvimento do solo, e a rotação de cultura com adubação verde sem fertilizante.

Castro et al. (1993) observaram que a porcentagem de colonização em vasos com soja, cultivada em solo proveniente de áreas com SPD, apresentava valores ligeiramente superiores àqueles encontrados em vasos com solo proveniente de áreas com preparo convencional, apesar do baixo percentual de colonização obtido nos tratamentos estudados que foi de 0 a 5%. Em outro estudo realizado no mesmo solo, a porcentagem de colonização entre SPD e preparo convencional, analisada em duas épocas de amostragem a campo na cultura de aveia preta, não diferiu significativamente (Fernandes, 1995).

Döbereiner et al. (1966) demonstraram que o nitrogênio fixado depende diretamente do tecido nodular à disposição da planta e que o logaritmo do nitrogênio total aumenta com a massa seca dos nódulos. Assim, a massa seca do nódulo (massa seca média/nódulo) tem sido utilizada, em conjunto com a coloração interna rósea do nódulo, como indicador de eficiência da fixação de nitrogênio a campo.

No presente estudo, a massa seca média/nódulo, número de nódulos e massa seca de nódulos por planta apresentaram alto coeficiente de variação. No entanto, observou-se que o tratamento PCN teve a maior massa seca média/nódulo e a maior massa seca por planta (Figura 6), possivelmente devido ao alto teor de carbono e razoável teor de fósforo, afetando positivamente a nodulação (Siqueira & Franco, 1988; Vidor & Freire, 1971). Vale lembrar, entretanto, que o tratamento PCN recebeu correção do pH e também de fertilizante fosfatado.

Figura 6. (A) Massa seca média de nódulos; (B) massa seca de nódulo por planta; (C) número de nódulos por planta de soja na cronossequência constituída por: Campo nativo (CAN); Preparo convencional sob campo nativo (PCN); Plantio direto deste 1989 (PD10); e Plantio direto deste 1979 (PD20). – Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Duncan a 5%

O CAN apresentou a menor massa seca média/nódulo, a menor massa de seca de nódulo por plantas e a menor média de nódulos por plantas. As condições encontradas no CAN são as menos propícias à nodulação, tais como: pH baixo, e provavelmente baixo teor de nutrientes no solo, principalmente molibdênio, magnésio e fósforo que são essenciais no processo de nodulação. Esses elementos encontra-se em baixo teores no solos brasileiros (Hungria et al.,1994).

No PD20 observou-se que a massa seca média/nódulo, massa seca de nódulo por planta e número de nódulos por planta foram semelhantes ao PCN e superiores ao PD10. No entanto, esse tratamento apresentou um desvio padrão mais alto na massa seca média/nódulo e número de nódulos por planta que os demais tratamentos.

Voss & Sidiras (1985) estudaram o efeito do SPD e do preparo convencional na nodulação. Observaram que no solo sob SPD houve distribuição mais profunda dos nódulos em seu perfil e maior massa seca média/nódulo quando comparado com o preparo convencional. Castro et al. (1993), também encontraram maiores valores de massa seca média/nódulo no SPD que no preparo convencional.

Diversos autores tem atribuído algumas vantagens ao SPD na manutenção e eficiência da população de *Bradyrhizobium japonicum*, como a menor variação de temperatura (Morote et al., 1990b; Fernandes, 1995), a produção e o acúmulo de compostos fenólicos agindo como estímulos ao crescimento dos rizóbios (Hungria & Vargas,1996). Nos resultados aqui apresentados, apesar do alto coeficiente de variação (Figura 6), observou-se um aumento de nodulação na cronossequência.

4.4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que as populações bacteriana e fúngica, e os microrganismos amonificadores, nitritadores e nitratores não são alterados quantitativamente com o tempo de adoção do SPD. Os fungos e os microrganismos nitrificadores demonstraram alterações com a mudanças de uso da terra. A porcentagem de colonização por fungos micorrízicos arbusculares e a nodulação foram beneficiadas com o tempo de adoção do SPD.

Com esses resultados de colonização por fungos micorrízico arbusculares sugere-se que estudo a campo seja realizado para verificar e otimizar a contribuição dos fungos micorrízicos na absorção de água e nutrientes no SPD.

5 CONCLUSÃO GERAL

O tempo de adoção do sistema plantio direto (SPD) resultou na diminuição dos teores de C e de N imobilizado pela biomassa microbiana em relação ao C e ao N total do solo. As relações $C_{mic}:C_{total}$ e $N_{mic}:N_{total}$ demonstram esta afirmativa. A relação $C_{mic}:N_{mic}$, na camada 0-5 cm, estreitou-se devido à diminuição do carbono microbiano, sugerindo mudança na composição da microbiota do solo. Contudo, a quantificação de bactérias, fungos, amonificadores e nitrificadores, pelos métodos empregados, não confirmaram esta observação. No entanto, a mudança também se manifestou nas medidas de atividade microbiana, ou seja, na respiração basal e no quociente metabólico (qCO_2) do solo.

Avaliações paralelas, conduzidas em casa de vegetação, demonstraram que a colonização por fungos micorrízicos arbusculares em raízes de milho e soja e a nodulação em raízes de soja foram beneficiadas pelo tempo de adoção do SPD, favorecendo a manifestação desses dois importantes processos simbióticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, M.; CLARK, F.E. Nitrifying Bacteria. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H. & KEENEY, D.R. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2^aed. Agronomy 9 . Part 2, Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy, Madison, p.1477-1483,1982.

ALVAREZ, R.; DÍAZ, R.A.; BARBERO, N.; SANTANATOGLIA, O.; BLOTA, L. Soil organic carbon, microbial biomass and CO₂-C production from three tillage systems. **Soil & Tillage Research**. V.33, p.17-28, 1995.

ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil. **Soil Biology and Biochemistry**. v.10, p.215-221, 1978.

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

ANDERSON, T.H. Physiological analysis of microbial communities in soil: Applications and limitations. In RITZ, K.; DIGHTON, J.; GILLER, K.E. (Ed.) **Beyond the biomass**. London: British Society of Soil Science (BSSS), 1994. cap.7, p.67-76.

ANDRADE, D. S.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; HUNGRIA, M. População microbiana em solos sob plantio direto ou convencional com soja, milho e trigo. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PLANTIO

DIRETO NA PEQUENA PROPRIEDADE, 1.,PONTA GROSSA, 1993.
Resumos. Ponta Grossa: IAPAR, 1993. p.35.

ANDRADE, D. S.; MIYAZAWA, M.; HAMAKAWA, P.J. Microrganismos amonificadores e nitrificadores. In:HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. (Ed) **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola.** Brasília:EMBRAPA-SPI,1994. p.355-367.

BALOTA, E.L.; ANDRADE, D.S.; COLOZZI-FILHO, A. Avaliações microbiológicas em sistemas de preparo do solo e sucessão de culturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO PLANTIO DIRETO PARA UMA AGRICULTURA SUSTENTÁVEL, 1., PONTA GROSSA, 1996. **Resumos Expandidos.** Ponta Grossa: IAPAR, 1996, p.9-11.

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

BIEDERBECK, V.O; CAMPBELL, C.A.; ZENTNER, R.P. Effect of crop rotation and fertilization on some biological properties of a loam in Southwestern Saskatchewan. **Canadian Journal of Soil Science** v.64, p.355-367, 1984.

BLAGODATSKY, S.A.; RICHTER, O. Microbial growth in soil and nitrogen turnover: A theoretical model considering the activity state of microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry.** v.30, p.1743-1755, 1998.

BLAGODATSKY, S.A; YEVDOKIMOV, I.V.; LARIONOVA, A.A.; RICHTER J. .Microbial growth in soil and nitrogen turnover: model calibrations with laboratory data. **Soil Biology and Biochemistry.** v.30, n.13, p.1627-1637, 1998

- BORGES, G.O. Resumo histórico do plantio direto no Brasil. IN:CNPT-EMBRAPA, FUNDACEP-FECOTRIGO, FUNDAÇÃO ABC. **Plantio Direto no Brasil**. Passo Fundo-RS:Editora Aldeia Norte, p.13-17,1993.
- BROOKES, P.C.;LANDMAN, A.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D.S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen. **Soil Biology and Biochemistry.**, v.17, p.837-847, 1985.
- CAMPBELL, C.A.; BIEDERBECK, V.O.; ZENTNER, R.P.; LAFOND, G.P. Effect of crop rotations and cultural practices on soil organic matter, microbial and respiration in a thin Black Chernozem. **Canadian Journal of Soil Science** v.71, p.363-376, 1991.
- CAMPBELL, C.A.; MOULIN, A.P.; BOWREN, K.E.; JANZEN, H.H.; TOWNLEY- SMICH, L.; BIEDERBECK, V.O Effect of rotations on microbial biomass, specific respiratory activity and mineralizable nitrogen in a Black Chernozemic soil. **Canadian Journal Soil Science** v.72, p.417-427, 1992.
- CARTER, M.R.; RENNIE, D.A. Changes in soil quality under zero tillage farming systems: distribution of microbial biomass and mineralizable C and N potentials. **Canadian Journal of Soil Science** v.62, p.587-597,1982.
- CARVALHO, Y. Densidade e atividade dos microrganismos do solo em plantio direto e convencional, na região de Carambeí – PR. Curitiba, 1997. 84p. Dissertação (M.S.). Universidade Federal do Paraná.
- CASTRO, O.M.; PRADO, H.; SEVERO, A.C.R.; CARDOSO, E.J.B.N. Avaliação da atividade de microrganismos do solo em diferentes sistemas de manejo de soja. **Scientia Agricola**. v.50, n.2, p.212-219, 1993.

- CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.14, p.125-135,1990.
- CATTELAN, A.J.; GAUDÊNCIO, C.A.; SILVA, T.A. Sistema de rotação de culturas em plantio direto e os microrganismos do solo, na cultura da soja, em Londrina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.21, p.293-301, 1997a.
- CATTELAN, A.J.; TORRES, E. SPOLADORI, C.L. Sistemas de preparo com a sucessão trigo/soja e os microrganismos do solo em Londrina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.21, p.303-311, 1997b.
- COLOZZI-FILHO, A. Efeito do sistema de cultivo e rotação de culturas sobre a população de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares. In: **Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, XXIII, Porto Alegre-RS,1991**. Resumos, Porto Alegre, Soc. Bras. Ciência do Solo, 1991. p.202.
- COLOZZI-FILHO, A.;BALOTA, E. L. Micorrizas arbusculares. In:HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. (Ed) **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília:EMBRAPA-SPI, p.383-418, 1994.
- DENARDIN, J.E.;KOCHHANN, R.A. Requisitos para a implantação e a manutenção do sistema plantio direto. IN:CNPT-EMBRAPA, FUNDACEP-FECOTRIGO, FUNDAÇÃO ABC. **Plantio Direto no Brasil**. Passo Fundo-RS:Editora Aldeia Norte, p.13-17,1993.
- De-POLLI, H.;GUERRA, J.G.M. Biomassa microbiana: perspectivas para o uso e manejo do solo. In: ALVAREZ, V.H.; FONTES, L.E.F.; FONTES, M.P.F. (Ed.) **O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado**. Viçosa: Soc. Bras. Ciência do Solo; Universidade Federal de Viçosa, Depto de solos, 1996. p.551-564.

- DICK, W.A. Organic carbon, nitrogen, and phosphorus concentration and pH in soil profiles as affected by tillage intensity. **Soil Science Society America Journal** v.47, p.102-107, 1983.
- DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N.B.; PENTEADO, A.F. Avaliação da fixação do nitrogênio, em leguminosas pela regressão do nitrogênio total da plantas sobre o peso dos nódulos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 1, p.233-237, 1966.
- DOMSCH, K.H. Influence of management on microbial communities in soil. In: Jensen, V.; Kjoller, A.; Sorensen, L.H. (Eds) **Microbial communities in soil**. Copenhagen: Elsevier Applied Science Publishers, 1985. p.355-367.
- DORAM, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society America Journal** v.44, p.765-771, 1980.
- DROZDOWICZ, A. Bactérias do solo In: VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. (Ed.) **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997. p.17-65.
- FAWCETT, R. S. Influences of the no-till system on drinkabilty of water; consequences on water treatment and availability of water. In: Seminário Internacional do Sistema Plantio Direto, 2, Passo Fundo, RS, 1997. Anais. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1997. p.3-10.
- FEBRAPDP - Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha. (1999) <http://www.agri.com.br/febrapdp> (15 Jan).
- FERNANDES, S.A.P. Avaliação de parâmetros químicos e biológicos em diferentes sistemas de manejo do solo. Piracicaba, 1995. 98p. Dissertação (M.S.) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

FOLLETT, R.F.; SHIMEL, D.S. Effect of tillage practices on microbial biomass dynamics. **Soil Science Society America Journal** v. 53, p.1091-1096, 1989.

GILLER, K.E. Microbial ecology in tropical soils. In: HUNGRIA, M. BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S. (Ed.) **Microbiologia do solo: desafios para o Séculos XXI**. Londrina: IAPAR/EMBRAPA-CNPSO, 1995. p.20-25.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist.**, v.84, p.487-500, 1980.

GRANATSTEIN, D.M.; BEZDICEK, D.F.; COCHRAN, V.L.; ELLIOTT, L.F.; HAMMEL, J. Long-term tillage and rotation effects on soil microbial biomass, carbon and nitrogen. **Biology and Fertility of Soils**, v. 5, p.265-270, 1987.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; PERES, J.R.R. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M.(Ed.) **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. cap.2, p.9-89.

HUNGRIA, M.; VARGAS, A. Exploring the microbial diversity and soil management practices to optimize the contribution of soil microorganisms to plant nutrition. In: STACEY, G.; MULLIN, B.; GRESSHOFF, P. (Ed.) **Biology of plant-microbe interaction**. St. Paul: ISPMI, 1996. p.493-496.

INSAM, H.; DOMSCH, K.H. Relationship between soil organic carbon and microbial biomass on chronosequences of reclamation sites. **Microbial Ecology**. v.15, p.177-188, 1988.

INSAM, H.; HASELWANDTER, K. Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession. **Oecologia**, v.79, p.174-178, 1989.

INTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Cartas climatológicas do estado do Paraná - 1994**. Londrina: IAPAR, 1994. 49p. (IAPAR. Documento 18).

JAHNEL, M.C. Métodos de plaqueamento por gotas e outros parâmetros microbiológicos na avaliação da degradação de lodo ativado de curtume em solos. Piracicaba, 1997, 79p. Tese (Doudorado)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

JENKINSON, D. S. ; LADD, J.N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In; PAUL, E.A.; LADD, J.N. (Ed) **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1981. vol 5, p.415-447.

JENKINSON, D.S. Determination of microbial biomass carbon and nitrogen in soil. In: WILSON, J.R. (Ed.) **Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Systems**. Wallingford,UK Cab Internacional, 1988. p.368-386.

LADD, J.N.; AMATO, M.; OADES, J.M. Decomposition of plant material in Australian soils. III Residual organic and microbial biomass C and N from isotopelabelled legume material and soil organic matter, decomposing under field conditions. **Australian Journal of Soil Research**, v.23, p.603-611, 1985.

LAL, R. No – tillage effects on soil properties under different crops in western Nigeria. **Soil Science Society America Journal** v.40, p.762-768, 1976.

LIMA, V.C.; LIMA, J.M.J.C.; EDUARDO, B.J.F.P.;CERRI, C.C. Conteúdo de carbono e biomassa microbiana em agrossistemas: comparação entre métodos de preparo do solo. **Agrárias**, Curitiba. v.13(1-2), p.297-302,1994.

- LYNCH, J.A.; PANTING, L.M. Cultivation and the soil biomass. **Soil Biology and Biochemistry**. v.12, p. 29-33, 1980.
- MAACK, R. **Geografia Física do Paraná: Classificação do clima do Estado do Paraná**. 2^o ed. Rio de Janeiro: Livraria José Olímpio Editora S.A. 1981. 442p.
- MENGEL, K. Turnover of organic nitrogen in soil and its availability to crops. **Plant and Soil**. v.181, p.83-93, 1996.
- MENZIES, J.D. Fungi. In: BLACK, C.A.(Ed) **Methods of soil analysis**. Madison, American Society of Agronomy, 1965. v.2, p.1502-1505.
- MIRANDA, L.C.F. Nossa experiência em plantio direto. In: II Encontro Nacional de Plantio Direto, Ponta Grossa, PR, 1983. **Anais**. Ponta Grossa: FEBRAP, 1983. p.160-179.
- MOROTE, C.G.B.; VIDOR, C.; MENDES, N.G. Alterações na temperatura do solo pela cobertura morta e irrigação. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 14, p.81-84, 1990a
- MOROTE, C.G.B.; VIDOR, C.; MENDES, N.G. ; PEREIRA, J. S. Melhoria da nodulação da soja pela cobertura do solo e inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 14, p.143-150, 1990b.
- MUZILLI, O. Manejo da fertilidade do solo. In: IAPAR. **Plantio direto no estado do Paraná**. Londrina: IAPAR, 1981 cap.4, p.43-57. (Circular técnico 23).
- NICOLARDT, B.; GUIRAUD, G.; CHAUSSOD, R. Décomposition dans un rol de crops microbiens marqués à l'azote 15. **Comptes Rendus Académie des Sciences, Paris**. E. 297, s III, p. 51-56, 1983.

- OCIO, J.A.; BROOKES, P.C. An evaluation of methods for measuring the microbial biomass in soils following recent additions of wheat straw and characterization of the biomass that develops. **Soil Biology and Biochemistry**, v.22, p.685-694, 1990.
- PARKINSON, D.; GRAY, T.R.G.; WILLIAMS, S.T. **Methods for studying the ecology of soil microorganisms**. Oxford, Adlard, 1971. p.116.
- PEREIRA, J. Nitrogen cycling in South American Savannas. **Plant and Soil**, v.67, p.293-304, 1982.
- PHILIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions British Mycological Society**, v.55, p.158-161, 1970.
- PIRT, S.J. **Principles of Microbe and Cell Cultivation**. Oxford, Boston: Blackwell Scientific, 1975. p.274.
- RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H. et al. **Análise química do solo para fins de fertilidade**. Campinas-SP, Fundação Cargill, 1987. p.170.
- REICOSKY, D.C.; KAMPER, G.W.; DOUGLAS Jr., C.L.; RASMUSSEN, P.E. Soil organic matter change resulting from tillage and biomass production. **Journal of Soil and Water Conservation**. v.50, n.3, p.253-261, 1995.
- ROVIRA, A.D. Microbiology of pasture soil and some effects of microorganisms on pasture plants. In: WILSON, J.R., (Ed.). **Plant relations in pasture**. Melbourne: CSIRO, 1978. p.95-110.
- RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. **Flow Injection analysis**. New York: Willey-Intersci. 1981. 271p.

- SANTRUCKOVA, H.; STRASKRABA, M. On the relationship between specific respiration activity and microbial biomass in soil. **Soil Biology and Biochemistry**. v.23, n.6, p.525-532, 1991.
- SHEN-MIN, S.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. Soil respiration and the measurement of microbial biomass C by the fumigation technique in fresh and in air dried soil. **Soil Biology and Biochemistry**. v.19, p.153-158, 1987.
- SIDIRAS, N.; PAVAN, M.A. Influência do sistema de manejo do solo no seu nível de fertilidade. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 9, p.249-240, 1985.
- SIDRA-IBGE-1997. (1998) **Censo Agropecuário 1995-1996**. <http://www.sidra.ibge.gov.br> (3 Dez).
- SILVA FILHO, G.N.; VIDOR, C., As práticas de manejo de solo na população microbiana. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 8, p.291-296, 1984.
- SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotenologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC- Ministério da Educação, ABEAS; Lavras: ESAL, FAEPE, 1988. 236p.
- SPARLING, G.P.; SHEPHERD, T.G.; KETTLES, H.A. Changes in soil organic C, microbial C, and aggregate stability under continuous maize and cereal cropping, and after restoration to pasture in soil from the Manawatu region, New Zealand. **Soil & Tillage Research**, v.24, p.225-241, 1992.
- STALEY, T.E.; EDWARDS, C.L.; SCOTT, C.L. & OWENS, L.B. Soil microbial biomass and organic component alterations in a no-tillage chronosequence. **Soil Science Society America Journal** v.52, p.998-1005, 1988.
- STEVENSON, F.J. **Nitrogen in agricultural soils** Madison: Am. Soc. Agronomy, Inc., 1982 940p.

- TRUFEM, S.F.B. ; OTOMO, H.S.; SILVEIRA, R.B.A. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em roseiras cultivadas em três municípios do Estado de São Paulo, Brasil. **Hoehnea**, São Paulo, v.16, p.165-177, 1989.
- TSAL, S.M; BARAIBAR, A.M.L.; ROMANI, V.L.M. Efeito de fatores do solo. In: CARDOSO, E.J.B.; TSAL, S.M.; NEVES, M.C.P. (Ed.) **Microbiologia do solo**. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.59-72.
- 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.
- VANCE, E.D.; JENKINSON, D.S. Microbial biomass measurements in forest soils: determination of K_c value and tests of hypotheses to explain the failure of the chloroform fumigation incubation method in acid soil. **Soil Biology and Biochemistry**. Oxford, v.6, p.689-696, 1987.
- VARGAS, L.K.; SHOLLES, D. Nitrogênio da biomassa microbiana, em solo sob diferentes sistemas de manejo, estimado por métodos de fumigação. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 22, p.411-417, 1998.
- VIDOR, C.; FREIRE, J.R.J. Efeito da calagem e da adubação fosfatada sobre a fixação simbiótica pela soja. **Agrônoma sulriograndense**, v.1, p.181-190, 1971.
- VOSS, M.; SIDIRAS, N. Nodulação da soja em plantio direto em comparação com plantio convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.20, p.775-782, Jul, 1985.
- WARDLE, D.A. Controls of temporal variability of the soil microbial biomass: a global-scale synthesis. **Soil Biology and Biochemistry**. v.30, n.13, p.1627-1637, 1998.

- WARDLE, D.A.; GHANI, A. A critique of the microbial metabolic quotient ($q\text{CO}_2$) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. **Soil Biology and Biochemistry**. v.27, n.12, p.1601-1610, 1995.
- WARDLE, D.A.; HUNGRIA, M. A biomassa microbiana do solo e sua importância nos ecossistemas terrestres. In: ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Ed.) **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p.193-216.
- WHITMORE, A.P. Alternative kinetic laws to describe the turnover of the microbial biomass. **Soil and Plant**. v.181, p.169-173, 1996.