**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Atributos microbiológicos na mudança de uso da terra para
produção de cana-de-açúcar na região centro-sul do Brasil**

Maísa Helena Heluany

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Microbiologia Agrícola

**Piracicaba
2014**

**Maísa Helena Heluany
Bacharel em Biotecnologia**

**Atributos microbiológicos na mudança de uso da terra para
produção de cana-de-açúcar na região centro-sul do Brasil**

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. **BRIGITTE JOSEFINE FEIGL**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Microbiologia Agrícola

**Piracicaba
2014**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Heluany, Maísa Helena

Atributos microbiológicos na mudança de uso da terra para produção de cana-de-açúcar na região centro-sul do Brasil / Maísa Helena Heluany. - - Piracicaba, 2014.
73 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2014.

1. Biomassa Microbiana 2. Atividade Enzimática 3. Análise de Redundância I. Título

CDD 633.61
H484a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICATÓRIA

DEDICO

Aos meus pais, Aldaisa e Marco, que,
além de me proporcionarem a melhor
educação,
me ensinaram a amar, dedicando o maior amor
do mundo a mim.

Ao meu irmão, Júnior,
que é meu companheiro desde sempre
e para sempre.

AMO VOCÊS!

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me proporciona a beleza da vida todos os dias.

À Prof^a Dr^a Bigitte Josefine Feigl, que além de orientar me ajudou a crescer profissionalmente e ter confiança em mim mesma.

Ao Prof. Dr. Carlos Clemente Cerri, que sempre foi muito atencioso com meu projeto.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Pellegrino Cerri, que sempre esteve presente para ajudar nas horas necessárias.

À Prof^a Dr^a Marie Luise Carolina Bartz que, além de me ensinar e ajudar se tornou, em pouco tempo, uma grande amiga.

Ao Laboratório do CENA-USP e seus funcionários: Obrigada pela ajuda.

À coordenação da PPG Microbiologia Agrícola, principalmente ao Prof. Dr. Fernando Dini Andreote.

À Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

Aos amigos e colegas de laboratório do CENA. Obrigada pelo companheirismo e pelas ajudas.

A Luciano Cristiano França que é a pessoa que eu vou ter para sempre no meu coração. Obrigada por estar na minha vida, por ser meu apoio me dando tanto carinho e por me ensinar sua forma linda de olhar o mundo.

Aos amigos verdadeiros com os quais eu convivo e mantenho contato, os quais se auto reconhecerão nessa frase.

O MEU MUITO OBRIGADA!

EPÍGRAFE

“Tudo que é seu encontrará um jeito de chegar até você.”

-Chico Xavier

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS.....	15
LISTA DE TABELAS	17
LISTA DE GRÁFICOS.....	19
1 INTRODUÇÃO	21
2 DESENVOLVIMENTO.....	23
2.1 Revisão Bibliográfica	23
2.1.1 Mudança de uso da terra para produção de cana-de-açúcar.....	23
2.1.2 Efeito da mudança de uso da terra sobre a microbiota do solo.....	24
a) Atributos quantitativos da biomassa microbiana do solo.....	27
b) Atributos funcionais da biomassa microbiana do solo.....	29
Fosfatase Ácida e Alcalina	31
β -Glicosidase.....	33
2.2 Material e Métodos.....	34
2.2.1 Caracterização das Áreas de Estudo	34
2.2.2 Coleta e Preparo das Amostras para Análises.....	37
2.2.3 Análises Microbiológicas	40
2.2.3.1 Análise Quantitativa.....	40
Biomassa Microbiana do Solo	40
2.2.3.2 Análises Funcionais.....	41
a) Atividade das fosfatases ácida e alcalina.....	41
b) Atividade da β -glicosidade	42
2.2.4 Análises Estatísticas.....	42
2.3 Resultados e Discussão	43
2.3.1 Características edafoclimáticas dos locais de estudo	43
2.3.2 Biomassa Microbiana do Solo	48
2.3.3 Atividade Enzimática	52
a) Atividade Enzimática da Fosfatase Ácida e Alcalina.....	52
b) Atividade Enzimática da β -Glicosidade	55
2.3.4 Análise multivariada – Análise de redundância	56
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
REFERÊNCIAS.....	61

RESUMO

Atributos microbiológicos na mudança de uso da terra para produção de cana-de-açúcar na região centro-sul do Brasil

Com a grande demanda por derivados da cana-de-açúcar no Brasil a expansão de área para produção, assim como o aumento da produtividade tem sido foco para áreas agrícolas na região centro-sul. Portanto áreas que anteriormente eram dedicadas a pastagem estão tornando-se cultivo de cana-de-açúcar. Essa mudança está ocorrendo com uma grande rapidez e por esse motivo preocupações com a sustentabilidade do solo estão sendo levantadas. O objetivo deste trabalho foi verificar como a atual mudança de uso da terra de pastagem para cultivo de cana-de-açúcar impacta atributos microbiológicos quantitativos e funcionais do solo em um transecto edafoclimático na região centro-sul do Brasil tendo a vegetação nativa como referência. Para isso foram feitas análises do carbono e nitrogênio da biomassa microbiana do solo segundo Vance, Brookes e Jenkinson (1987) e análises da atividade enzimática da β -glicosidase, fosfatase ácida e alcalina segundo Tabatabai (1994). Verifica-se a tendência de reduzir a fertilidade na pastagem em relação a mata nativa e posteriormente aumentar com o uso de fertilizantes na cana-de-açúcar. O estoque de C tem um menor valor na pastagem quando não manejada em Lat S 17°, diminui na sequência de mudança dos sistemas de uso da terra em Lat S 21°, porém uma recuperação na mudança para cultivo de cana-de-açúcar e é maior em Lat S 23° quando a textura do solo é mais argilosa. Existe uma diminuição do estoque de CBM das matas nativas para as pastagens e um aumento nos cultivos de cana-de-açúcar em Lat S 17° e Lat S 21°. Em Lat S 23° a pastagem apresenta maior CBM do que os outros sistemas de uso da terra. Nos locais de estudo a menor relação CBM/C Total foi de 2,54% na mata nativa em Lat S 17° e a maior de 5,74% na pastagem de Lat S 23°. O N é um elemento muito sensível, em todos os atributos analisados a mudança de uso da terra causou uma grande diminuição, e a degradação do solo é o fator que causa o grande impacto nesses atributos. A textura argilosa do solo garante maior atividade enzimática, porém em cultivos de cana-de-açúcar a atividade diminui independente da classe textural. Os mesmos usos da terra em diferentes locais não podem ser analisados como repetições. Sendo assim pode-se concluir que nos casos analisados o impacto da mudança de uso da terra de pastagem para cultivo de cana-de-açúcar se manifestou de forma diferente em cada local, não permitindo uma generalização.

Palavras-chave: Biomassa Microbiana; Atividade Enzimática; Análise de Redundância

ABSTRACT

Microbiological attributes in the land use change for the production of sugarcane in the center-south region of Brazil

The great demand for derivatives of sugarcane in Brazil is the motive for the area expansion for production as well as the increase of productivity have been the focus of agricultural areas in the center-south region. So areas that were previously pastures have been changing for sugarcane cultivation. This change has occurred with great speed and therefore concerns about the sustainability of soil have been raised. The aim of this study was to determine how the current change from pasture to sugarcane cultivation impacts quantitative and functional microbiological attributes of soil in a soil climatic zone in the central-south region of Brazil considering the native vegetation as reference. For it were made analysis of soil microbial biomass carbon and nitrogen according to Vance, Brookes and Jenkinson (1987) and analysis of enzymatic activity of β -glucosidase, acid and alkaline phosphatase according to Tabatabai (1994). There is a tendency to reduce fertility in pasture compared to native vegetation and then increase with the use of fertilizers in sugarcane cultivation. The stock of C has a lower value in the pasture when there is no fertilizers in Lat S 17°, decreases in the land use change in Lat S 21°, but there is a recovery in the switch over to sugarcane cultivation and it is the biggest in Lat S 23° when the soil texture is clayey. There is a decrease in the stock of CBM from native forests to pastures and an increase in sugarcane cultivation in Lat S 17° and Lat S 21°. In Lat S 23° the pasture has higher CBM stock than other land use systems. In the study sites the reason between CBM and C Total was 2.54% in the native vegetation in Lat S 17° and the highest 5.74% in the pasture of Lat S 23°. The N is a very sensitive element, in all attributes analyzed, the land use change caused a large decrease, and soil degradation is the factor that causes serious impact on those attributes. The clayey soil ensures greater enzymatic activity, but in sugarcane cultivation decreases the activity independent of the texture. The same land uses in different locations can't be analyzed as repetitions. Therefore in the cases analyzed the impact of the change from pasture to sugarcane cultivation was differently in each place, not allowing a generalization.

Keywords: Microbial biomass; Enzyme activity; Redundancy Analysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização dos três municípios em que se encontram os locais de estudo.....	34
Figura 2 - Resumo da descrição dos locais de estudo.....	37
Figura 3 - Disposição do esquema amostral nas áreas de vegetação nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar nos três locais de estudo	38
Figura 4 - Esquema de coleta das sub-amostras que compuseram cada amostra composta de campo	39
Figura 5 - Análise de redundância dos atributos microbiológicos e físico-químicos dos locais estudados. MN para mata nativa; PA para pastagem e CN para cultivo de cana-de-açúcar.....	57
Figura 6 - Quadro resumo dos atributos microbiológicos analisados, indicando pelos sinais de maior e menor quando ocorreram diferenças estatisticamente significativas dos usos da terra em relação à mata nativa.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características químicas, densidade e textura dos solos estudados, camada 0 -10 cm.....	44
Tabela 2 - Características do carbono e nitrogênio da biomassa microbiana dos solos das regiões estudadas	50
Tabela 3 - Atividade da fosfatase ácida e alcalina do solo da mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar nos três locais coletados. Unidade: $\mu\text{g p-nitrofenol g solo seco h}^{-1}$	53
Tabela 4 - Atividade da β -glicosidase do solo da mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar nos três locais coletados. Unidade: $\mu\text{g p-nitrofenol g solo seco h}^{-1}$	56

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Estoque de Carbono Total do solo das áreas de mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar dos três locais estudados. Média (n=9) $\pm$ Desvio padrão46
- Gráfico 2 - Estoque de Nitrogênio Total do solo das áreas de mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar dos três locais estudados. Média (n=9) $\pm$ Desvio padrão46
- Gráfico 3 - Estoque de Carbono da Biomassa Microbiana do solo das áreas de mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar dos três locais estudados. Média (n=9) $\pm$ Desvio padrão.....48
- Gráfico 4 - Estoque de Nitrogênio da Biomassa Microbiana do solo das áreas de mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar dos três locais estudados. Média (n=9) $\pm$ Desvio padrão.....49

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é líder na produção de etanol derivado de cana-de-açúcar, com mais de 30% da produção mundial. O setor representa atualmente um dos maiores ramos do agronegócio nacional (GOLDEMBERG et al., 2014; UNICA, 2014) e está concentrado na região centro-sul do país, onde se encontram 90% dos agroecossistemas canavieiros (UNICA, 2014). O volume da produção aumentou significativamente nos últimos 5 anos, sendo que o Estado de Goiás apresentou o maior incremento (32,4 milhões de toneladas de cana colhida), seguido de São Paulo (27,2 milhões de toneladas) e Mato Grosso do Sul (20,7 milhões de toneladas) (UNICA, 2014). A meta de produção de etanol para 2025 é de 249 bilhões de litros por ano, incluindo o consumo interno e as exportações (NOVACANA, 2014). Para atingir essa meta é necessário aumentar não só a produtividade, mas também expandir as áreas dos cultivos de cana-de-açúcar com um adicional de 57.200 km² de área plantada (LAPOLA et al., 2010; EGESKOG et al., 2014). Em toda a região centro-sul, atualmente mais de 95% da mudança do uso da terra para cultivo de cana-de-açúcar tem sido de pastagens (70%), cultivo de grãos (25%) e citrus (1%) (ADAMI et al., 2012).

A conversão de ecossistemas naturais em agroecossistemas pode promover alterações nos atributos edáficos, tendo em vista a estreita integração da cobertura vegetal e o sistema físico, químico e biológico do solo (FERREIRA et al., 2007). Diferenças climáticas também interferem na atividade microbiana do solo (TATE et al., 1991), mudanças climáticas atingem principalmente as camadas superficiais do solo, onde as oscilações de umidade e temperatura são maiores e existe a maior quantidade de microrganismos (CATTELAN; VIDOR, 1990). Considerando que as taxas de reações químicas das células microbianas tem influência direta da temperatura, as análises biológicas e bioquímicas do solo, tais como a biomassa, atividade e população microbiana, são indicadores sensíveis para monitorar a interação de fatores ambientais sobre o comportamento dos microrganismos do solo (MATTOS et al., 2011).

Compreender como grupos microbianos do solo respondem a alterações ambientais sob vários sistemas de manejo ajuda a identificar consequências ecológicas de práticas agrícolas e a desenvolver estratégias para beneficiar o manejo agrícola (JACKSON et al., 2003; PIMENTEL et al., 2005).

O carbono e o nitrogênio imobilizados na Biomassa Microbiana do Solo (BMS) são indicadores da qualidade do solo, pois respondem prontamente e de forma consistente às mudanças ambientais e às flutuações sazonais (HUNGRIA et al., 2009).

As enzimas, como a fosfatase ácida que é produzida tanto por microrganismos, assim como em forma de exudados de raiz (REJSEK et al., 2012) e a atividade da fosfatase alcalina se origina estritamente de fontes microbianas (YANG; METCALF, 2004), são produtos da atividade microbiana e de grande importância na nutrição de plantas e mineralização de fósforo orgânico em solos, e estão entre as mais estudadas (REJSEK et al., 2012). A degradação microbiológica de celulose requer a ação de no mínimo três grupos de enzimas, incluindo a β -glicosidase que é muito importante porque quebra carboidratos de baixo peso molecular, liberando açúcar no solo. A β -glicosidase catalisa a hidrólise do β - Δ -glicopiranosídio, está envolvida na hidrólise de celulose e é a mais predominante em solos entre as glicosidases (DODOR; TABATABAI, 2005).

Face ao exposto, o objetivo deste trabalho foi verificar como a atual mudança de uso da terra de pastagem para cultivo de cana-de-açúcar impacta atributos microbiológicos quantitativos e funcionais do solo em um transecto edafoclimático na região centro-sul do Brasil tendo a mata nativa como referência.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 Mudança de uso da terra para produção de cana-de-açúcar

O Brasil é responsável por 35% da produção mundial de cana-de-açúcar, o cultivo de cana-de-açúcar ocupa cerca de 8 milhões de hectares, ou 2,5% das terras aráveis do país (GOLDEMBERG et al, 2014; UNICA, 2014).

A limitação dos recursos fósseis tornou-se uma preocupação constante, pois a queima de combustível fóssil aumenta a concentração de gases do efeito estufa e é diretamente responsável por danos à saúde especialmente nas grandes cidades (MARTINS et al., 2002; SANTOS et al., 2008). Sendo assim a biomassa entra em foco como principal forma de combustível e energia renovável (GBEP, 2011).

Dentre os biocombustível o etanol é visado devido à competitividade de sua cadeia produtiva no mercado e pelo fato do Brasil ser o segundo maior produtor no mundo. Por exemplo, no ano de 2003 a emissão para a atmosfera de 27,5 milhões de toneladas de CO₂ equivalente foi evitada devido à frota brasileira de carros Flex-Fuel, ou seja, à substituição do uso de gasolina por etanol (MACEDO, 2005; UNICA, 2014). Sendo assim, o aumento da demanda por derivados da cana-de-açúcar tem causado uma expansão significativa das áreas cultivadas com cana-de-açúcar no Brasil (RUDORFF et al., 2010; GOLDEMBERG et al., 2014).

Os Estados brasileiros que concentram a produção de cana-de-açúcar são: São Paulo com uma participação de 57%, Goiás com 10%, Minas Gerais com 9% e o Mato Grosso do Sul com 6,3%, ou seja, 90% do cultivo de cana-de-açúcar do Brasil está na região centro-sul (UNICA, 2014). A meta de produção de etanol para 2025 é de 249 bilhões de litros por ano, incluindo o consumo interno e as exportações (NOVACANA, 2014). Para atender a demanda crescente é necessário aumentar a produtividade, bem como expandir a área dos cultivos de cana-de-açúcar, sendo preciso um adicional de 57.200 km² de área plantada (LAPOLA et al., 2010; EGSKOG et al., 2014). Em relação ao crescimento de produção em volume, nos últimos 5 anos, o Estado de Goiás foi o que apresentou maior incremento (32,4 milhões de toneladas de cana colhida), seguido de São Paulo (27,2 milhões de toneladas) e Mato Grosso do Sul (20,7 milhões de toneladas) (UNICA, 2014).

Para que exista essa expansão de área plantada e consequente incremento na produção, é necessário substituir áreas utilizadas com pastagens ou outros cultivos pelo cultivo de cana-de-açúcar, porém atividades com retornos de mercado mais elevadas não são escolhidas para a expansão, assim o ecossistema natural que foi convertido em pastagem anteriormente devido a grande demanda na produção de gado, está cedendo lugar para o cultivo de cana-de-açúcar. Atualmente mais de 95% da mudança do uso da terra para cultivo de cana-de-açúcar tem sido de pastagens (70%), cultivo de grãos (25%) e citrus (1%), entre os anos 2000 e 2009 a conversão de ecossistemas naturais para cultivos de cana-de-açúcar representou menos de 1% (ADAMI et al., 2012). Esta mudança no uso da terra tem levantado preocupações sobre a sustentabilidade do solo brasileiro (GOLDEMBERG; COELHO; GUARDABASSI, 2008; GOLDEMBERG et al., 2014).

A região centro-sul do Brasil é a que apresenta maior expansão, e o motivo dessa região ser mais utilizada para produção de cana-de-açúcar é que apresenta boas condições para o cultivo e está situada na fronteira de expansão agrícola (MYERS et al., 2000; KLINK; MACHADO, 2005; SMEETS et al., 2008). A região centro-sul do Brasil apresenta mais de 6,5 mil espécies de plantas e tem sofrido taxas de conversão para pastagens e cultivos agrícolas maiores que as taxas de desmatamento na Amazônia (KLINK; MACHADO, 2005).

Essa grande demanda por cultivos de cana-de-açúcar chama atenção para os impactos ambientais, pois o uso intensivo do solo em que não se adotam práticas conservacionistas, invariavelmente leva a efeitos negativos tanto para o ambiente como para a produtividade agrícola (FISCHER et al., 2008).

2.1.2 Efeito da mudança de uso da terra sobre a microbiota do solo

Áreas com vegetação natural possuem uma entrada constante de resíduos, a matéria orgânica é formada pela decomposição de resíduos vegetais que permanecem no solo. A conversão de ecossistemas naturais em agroecossistemas pode promover alterações nos atributos edáficos, tendo em vista a estreita integração da cobertura vegetal e o sistema físico, químico e biológico do solo (FERREIRA et al., 2007). Estudos realizados em uma série de solos e diferentes vegetações mostraram que mudanças na vegetação, como o desmatamento da floresta, colheita ou mudança de cultura podem ter grandes impactos negativos

sobre a matéria orgânica (GRIFFTHS; CALDWELL; SOLLINS, 1993; HENROT; ROBERTSON, 1994; CALDWELL; GRIFFTHS; SOLLINS, 1999).

Em agroecossistemas as práticas de manejo como a rotação de cultura e fertilização são consideráveis influências no nível de matéria orgânica retida no solo ao longo do tempo. A matéria orgânica contida no solo faz parte de uma rede de entrada de resíduos dos agroecossistemas e é um componente crítico para a produtividade (ALTIERI, 2004). A saúde e qualidade do solo estão relacionadas com a dinâmica natural da matéria orgânica do solo influenciada por práticas agrícolas (DODOR; TABATABAI, 2005).

A mudança do uso da terra associada ao manejo inadequado da cultura provoca um grande impacto nas propriedades físicas, químicas e, principalmente, biológicas do solo (SPAROVEK; SCHNUG, 2001; POLITANO; PISSARRA, 2005; MARTINELLI; FILOSO, 2008). Essa mudança causa redução da quantidade e alteração da qualidade da matéria orgânica do solo que em bom estado é responsável pela agregação e estruturação do solo, impedindo a erosão, disponibilidade de nutrientes para plantas, armazenamento de água e composição da comunidade microbiana (PANKHURST et al., 2003).

A comunidade vegetal induz mudanças na estrutura da comunidade microbiana e ciclagem de nutrientes do solo através da rizosfera, do mesmo modo que a comunidade microbiana influencia na comunidade vegetal (BOLTON; FREDRICKSON; ELLIOTT, 1992). O caráter da matéria orgânica presente pode selecionar grupos específicos de microrganismos que possuem as respectivas vias catabólicas necessárias para a sua decomposição (PATERSON et al., 2008).

A comunidade microbiana reage não só ao substrato vegetal adicionado, mas também as condições químicas do solo (BARDGETT; YEATES; ANDERSON, 2005). O conhecimento sobre as propriedades edafoclimáticas é limitado, existe alta variabilidade dos fatores que controlam o ciclo do Carbono (C) e Nitrogênio (N) orgânico em uma única unidade de solo, sendo assim o estudo desses elementos essenciais para a vida no solo apresenta dificuldades (BERNOUX et al., 2002).

Diferenças climáticas atingem principalmente as camadas superficiais do solo, onde as oscilações de umidade e temperatura são maiores, sendo assim interferem na atividade microbiana do solo, quando ocorre elevação na temperatura e pluviosidade há um efeito positivo sobre o crescimento das plantas e a atividade microbiana (CATTELAN; VIDOR, 1990; TATE et al., 1991), portanto os

microrganismos são influenciados por diferentes climas. Considerando que as taxas de reações químicas das células microbianas tem influência direta da temperatura, as análises biológicas e bioquímicas do solo, tais como a biomassa, atividade e população microbiana, são indicadores sensíveis para monitorar a interação de fatores ambientais sobre o comportamento dos microrganismos do solo (MATTOS et al., 2011).

Muitas transformações de nutrientes, por exemplo C, N, fósforo (P) e enxofre (S), ocorrem na biomassa microbiana (DICK, 1992), que é um componente fundamental da ciclagem de nutrientes. O dinamismo e a rápida resposta às alterações ambientais faz com que os microrganismos sejam importantes bioindicadores de transformações no solo, ou seja, qualquer alteração no solo pode causar uma mudança no número ou na atividade dos microrganismos, podendo, também, afetar os processos bioquímicos do solo e influenciar a fertilidade do solo e crescimento da planta (ARAUJO et al., 2010), pois microrganismos mineralizam, oxidam, reduzem e imobilizam materiais minerais e orgânicos no solo (KENNEDY; DORAN, 2002).

Compreender como grupos microbianos do solo respondem a alterações ambientais sob vários sistemas de manejo ajuda a identificar consequências ecológicas de práticas agrícolas e a desenvolver estratégias para beneficiar o manejo agrícola (FEIGL; CERRI; BERNOUX, 1998; VAN BRUGGEN; SEMENOV, 2000; JACKSON et al., 2003; PIMENTEL et al., 2005). Trabalhos mostram que a forma do uso do solo é um importante fator que influencia a microbiota (JESUS et al., 2009; TAKETANI; TSAI, 2010; NAVARRETE et al., 2011), causando variações nas características inerentes ao ambiente (HE et al., 2012).

Microrganismos do solo podem atuar como marcadores biológicos sensíveis, sendo usados para avaliar a qualidade ou a degradação do solo. Propriedades microbiológicas podem servir como indicadores, como o conteúdo de biomassa microbiana, diversidade microbiana e atividade enzimática, pois são importantes tanto no que se refere à ciclagem dos nutrientes, como também na estimativa da capacidade do solo para o crescimento vegetal. Apesar da importância dos microrganismos do solo, na realização de processos de interesse ambiental e agrônômico, ainda não é bem estabelecido como mudanças em seu habitat podem gerar impacto sobre as comunidades e suas funções (BERTHRONG et al., 2009; ARAUJO; MONTEIRO, 2007).

a) Atributos quantitativos da biomassa microbiana do solo

A Biomassa Microbiana do Solo (BMS) é de 75 a 98% representada por fungos, bactérias e archaea, de 1 a 6% por protistas, sendo definida como a parte viva da matéria orgânica do solo (BEARE, 1997). Por esse motivo, atua como um importante indicador de alterações, pois é a parte viva mais frágil do solo, respondendo mais rapidamente às mudanças (MARINARI et al., 2006; BROOKES et al., 2008), sendo que perturbações do solo podem causar alterações significativas, afetando a comunidade microbiana (BALOTA; AULER, 2011).

A BMS tem sido correlacionado com vários microrganismos funcionais, tais como amoníferos e nitrificantes (ANDRADE et al., 1995), à diversidade microbiana (NOGUEIRA et al., 2006), às populações bacterianas leguminosas nodulantes (PEREIRA et al., 2007) e às atividades enzimáticas no solo (MATSUOKA; MENDES; LOUREIRO, 2003; MENDES et al., 2003; BALOTA et al., 2004). Além disso, a BMS está relacionada a diversos processos do solo, incluindo a decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, solubilização de nutrientes (sobretudo fosfatos), degradação de compostos xenobióticos e poluentes, estruturação do solo, armazenamento de matéria orgânica, controle biológico e supressão de fitopatógenos, e por essa razão, muitas vezes, tem sido apontado como um componente importante para a manutenção da qualidade do solo e produtividade das plantas (NOGUEIRA et al., 2006; ROSCOE et al., 2006).

O Carbono imobilizado na BMS (CBM) é um dos indicadores mais promissores da qualidade do solo, pois responde prontamente às mudanças ambientais de forma consistente ao longo de flutuações sazonais devido às condições climáticas, mais rapidamente do que os parâmetros físicos e químicos (NOGUEIRA et al., 2006; ROSCOE et al., 2006; FRANCHINI et al., 2007; HUNGRIA et al., 2009).

Na revisão de Kaschuk e colaboradores (2010) foi observado que nos ecossistemas brasileiros ocorre uma variação no CBM de acordo com cada bioma e uso da terra, por exemplo, no bioma mata atlântica com mata nativa foi relatado uma variação de 683 a 1520 mg kg⁻¹, em terras agricultáveis foi encontrada uma variação de 491 a 591 mg kg⁻¹, e no bioma Cerrado com mata nativa a variação foi de 101 a 1201 mg kg⁻¹, em pastagem houve uma variação de 87 a 500 mg kg⁻¹. Com base em

observações nas alterações do CBM, medidas podem ser tomadas para evitar a degradação e perda da qualidade do solo e, conseqüentemente, evitar perdas de produtividade do agroecossistema (KASCHUK et al., 2010).

O N é o elemento mais exigido pelas plantas e encontra-se na sua maioria (98%) complexado na forma de matéria orgânica, ficando assim dependente da BMS para a sua transformação e conseqüente absorção pelas plantas. O Nitrogênio da BMS (NBM) é a menor porcentagem da BMS (1 a 5%), mas é responsável pela reserva lábil, ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica e fluxo de energia (JENKINSON; LADD, 1981).

Os microrganismos diferem muito mais no seu teor de N do que no de C, dependendo do seu estágio de crescimento. Portanto, pequenas mudanças na estrutura da BMS podem resultar em grandes mudanças no NBM (ANDERSON; DOMSCH, 1989). O NBM é bastante sensível às mudanças que ocorrem no solo, sendo um bom indicador de qualidade do solo (JACKSON et al., 2003).

O NBM é liberado na medida em que os microrganismos morrem e são mineralizados pela população restante, por isso quando os solos são submetidos a estresses ambientais a maior parte do N mineralizado pode ser de origem microbiana (MARUMOTO; ANDERSON; DOMSCH, 1982). Baixos teores de NBM são normalmente uma resposta à redução da disponibilidade de nitrogênio no solo (VARGAS; SCHOLLES, 1998). Segundo Nunes e colaboradores (2012) os valores de NBM solo diminuiu na seguinte ordem: Mata Nativa > agroecossistemas moderadamente degradados > agroecossistemas altamente degradados.

A relação entre o CBM e o C Total (CBM/C Total) pode estabelecer a diversidade de microrganismos decompositores e a eficiência na utilização do substrato (INSAM; HASELWANDTER, 1989). As mudanças na relação CBM/C Total refletem o padrão de entrada de matéria orgânica nos solos, 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). Foi constatado por Carter (1986) que o preparo do solo resulta em diminuição do CBM e da relação CBM/C Total. Entretanto, em virtude dos vários fatores ambientais que tem influência nesses atributos, as relações necessitam de interpretações locais (SPARLING, 1992).

A relação CBM/C Total foi reportada como ideal entre 2,0 e 4,4 %, porém para sistemas de monocultivos anuais a faixa é de 1,8 a 2,25 %, e entre o NBM e o N

Total (NBM/N Total) a faixa é de 1% a 7% (FAUCI; DICK, 1994). Relações entre atributos do solo têm sido usadas no estudo dos processos de ciclagem e transformação de nutrientes, bem como para aferir atributos qualitativos da dinâmica da porção orgânica do solo (BROOKES et al., 1985; ANDERSON, 2003). Isso permite identificar possíveis padrões de qualidade do solo (WARDLE, HUNGRIA, 1994; GAMA-RODRIGUES, 1999).

Por outro lado, os efeitos de diferentes espécies de cobertura do solo sobre a biomassa e a atividade microbiana têm recebido muito menos atenção (BALOTA; AULER, 2011). Há indícios de que uma grande parte dos benefícios de espécies de cobertura vem da melhoria da diversidade microbiana (DICK, 1992; KASCHUK et al., 2010).

b) Atributos funcionais da biomassa microbiana do solo

Um grupo de microrganismos que participa de um processo de transformação de um nutriente no solo, participando de um ou mais ciclos biogeoquímicos é chamado de grupo funcional da biomassa microbiana, sendo assim, cada grupo apresenta um atributo funcional (ANDRADE; NOGUEIRA, 2005; RAMOS et al., 2012).

As enzimas são associadas com a BMS (DODOR; TABATABAI, 2003), pois elas têm participação essencial nos ciclos dos elementos no solo e são sintetizadas, principalmente, pela BMS. As enzimas catalisam todas as reações bioquímicas e são parte integrante do ciclo de nutrientes no solo, por isso uma variedade de enzimas são utilizadas em correlações com funções biológicas do solo (TABATABAI, 1994). Portanto as condições que alteram a atividade microbiana, como diferenças na vegetação, também alteram a atividade enzimática (CARVALHO, 2005).

Em razão da importância da BMS para os processos que ocorrem no solo, verifica-se que estudos a respeito da quantidade e atividade da BMS, bem como da atividade enzimática, podem fornecer subsídios para o melhor uso do solo (D'ANDREA et al., 2002; ARAUJO; MONTEIRO, 2007).

Em comunidades microbianas do solo a manutenção das funções críticas podem se tornar mais importantes do que a manutenção da diversidade taxonômica. Uma função microbiológica essencial em solos é o processamento e recuperação de nutrientes essenciais acumulados na matéria orgânica do solo. Isto requer, na

maioria das vezes, a atividade de enzimas extracelulares para processar os aminoácidos, amônia, fosfato. O estudo da atividade enzimática tem sido assunto de pesquisas por anos (MAWDSLEY; BURNS, 1994; REJSEK et al., 2012).

Enzimas no solo são utilizadas como indicadores de qualidade por sua alta sensibilidade e rápida resposta ao manejo e uso do solo, sendo assim um índice funcional que integra o antigo manejo do solo com o atual, além de sua facilidade de determinação está relacionada com a condição da vegetação do solo (TABATABAI, 1994; CALDWELL; GRIFFITHS; SOLLINS, 1999; DODOR; TABATABAI, 2003).

A matéria orgânica do solo é sintetizada e degradada pela ação de enzimas microbianas, o equilíbrio entre esses dois processos concorrentes determina o quanto de carbono é sequestrado, bem como contribuindo para: a estrutura dos agregados do solo e a estabilidade (SIX et al, 2006); disponibilidade de nutrientes de plantas; retenção de água e manejo do solo; diversidade microbiana e atividade; e uma série de propriedades enzimáticas que determinam a fertilidade do solo e produtividade da planta (BARDGETT; YEATES; ANDERSON, 2005).

Fatores abióticos como: o aumento da temperatura do solo, elevadas concentrações de dióxido de carbono atmosférico (FINZI et al., 2006) e mais frequentemente os ciclos de umedecimento e secagem, mudam a composição da comunidade microbiana e, possivelmente, aumentam a BMS e a atividade das enzimas (ALLISON; TRESEDER, 2008), diretamente ou após a estimulação do crescimento das plantas e aumento de deposição da matéria orgânica (TABATABAI, 1994). A atividade enzimática demonstra ser afetada, também, por diferentes agrossistemas e práticas de manejo do solo e variam na medida em que o ambiente do solo é alterado (TABATABAI, 1994; DODOR, TABATABAI, 2005).

Os microrganismos são considerados como a mais importante fonte de enzimas no solo (TABATABAI, 1994; DODOR; TABATABAI, 2003). Os microrganismos contribuem para a atividade enzimática do solo, tanto através da síntese e liberação de enzimas por células vivas como pela liberação de enzimas intracelulares de células mortas lisadas (MAWDSLEY; BURNS, 1994). Com a sua grande biomassa, alta atividade metabólica e curta vida sob condições favoráveis, as populações microbianas são influenciadas indiretamente pela rizosfera das plantas (TABATABAI, 1994).

As enzimas liberadas no solo são frequentemente adsorvidas em partículas de argila (TABATABAI, 1994), essas enzimas imobilizadas representam um

reservatório significativo de atividade potencial e podem até funcionar como a primeira resposta catalítica de mudanças na disponibilidade de substrato em solos, bem como servir de gerador de moléculas de sinalização para a comunidade microbiana resultando em um solo com uma atividade enzimática não diretamente associada à BMS existente (MAWDSLEY; BURNS, 1994).

Ações bioquímicas são dependentes ou relacionadas com a presença de enzimas existentes fora dos microrganismos e sistema radicular das plantas e envolvem transformações de matéria orgânica do solo. As enzimas desempenham um papel importante na degradação de polímeros comuns (por exemplo, celulose e maltose) no solo, e os produtos monoméricos (como glicose, galactose e compostos orgânicos de minerais), que são importantes fontes de carbono, minerais e de energia para os organismos do solo (ERVAZI; TABATABAI, 1988; MAWDSLEY; BURNS, 1994).

Assim as enzimas extracelulares do solo são diretamente responsáveis pelo processamento inicial de carbono e nutrientes orgânicos (CALDWELL; GRIFFITHS; SOLLINS, 1999) e os impactos dos diferentes manejos ou culturas no solo sobre a atividade das enzimas deve indicar respostas funcionais iniciais da comunidade microbiana.

Cada solo pode possuir um padrão característico de enzimas específicas. As diferenças no nível de atividade enzimática são causadas principalmente pelo fato de que cada tipo de solo, de acordo com a sua origem e condições de desenvolvimento é distinto de todos os outros no seu conteúdo de compostos orgânicos, na composição e na atividade de organismos vivos que o habitam, e consequentemente, na intensidade de processos biológicos. Assim, é provável que, cada tipo de solo tenha o seu próprio nível de atividade enzimática (TABATABAI, 1994).

Fosfatase Ácida e Alcalina

O P nativo nos solos foi derivado a partir da apatita (composto complexo de fosfato tricálcico). Durante o intemperismo e desenvolvimento do solo, o P é liberado, absorvido pelas plantas e reciclado, ou incorporado no material orgânico dos solos e sedimentos, sendo então redepositados como formas minerais ou insolúveis ou lentamente solúveis. Apenas uma pequena fração do P ocorre em

formas solúveis em água. Os compostos de P no solo podem estar em formas inorgânicas e orgânicas solúveis na solução do solo, fracamente adsorvidos (lábil) e formas orgânicas insolúveis, tais como da BMS de matérias não decompostas como resíduos vegetais e animais e parte da matéria orgânica do solo (húmus) (STEVENSON, 1986).

Grandes proporções de P no solo estão organicamente ligadas e a mineralização dessas porções é de muita importância agrícola e econômica, a assimilação do P pelas plantas e microrganismos é precedido pela atividade de enzimas do solo. Várias enzimas estão envolvidas na decomposição de compostos orgânicos de P, as enzimas que catalisam a hidrólise de uma variedade de fosfomonoésteres orgânicos e, portanto são importantes para a mineralização de P orgânico em solos e nutrição de plantas, comumente chamadas de fosfatases (phosphomonoesterases) (STEVENSON, 1986).

A deficiência de fósforo no solo aumenta a atividade de fosfatase extracelular (TADANO et al., 1993). Hofmann (1963) sugeriu como nomes fosfatases ácidas (E.C. 3.1.3.2) ou alcalinas (E.C. 3.1.3.1), sendo assim classificadas por apresentarem atividade ótima em faixas ácidas (pH 4-6,5) e alcalinas (pH 11), respectivamente.

A fosfatase ácida é produzida tanto por microrganismos, incluindo bactéria, protozoários, fungos micorrízicos e fungos saprófitas, assim como em forma de exudados de raiz (REJSEK et al., 2012). Já a atividade da fosfatase alcalina se origina estritamente de fontes microbianas (YANG; METCALF, 2004). Ou seja, seus modos de ação são o mesmo, catalisar monoésteres de P, embora os organismos que a produzam sejam diferentes. Quando essas enzimas atuam sobre o substrato inositol-hexafosfato, são denominadas fitases, mas são na maioria fosfatases ácidas (ERVAZI; TABATABAI, 1988). A reação catalisada é: phosphomonoesterases + $H_2O = ROH + PO_4^{3-}$.

Por causa da importância dessas enzimas na nutrição de plantas e mineralização de P orgânico em solos, essas duas enzimas, especialmente a fosfatase ácida, estão entre as mais estudadas (REJSEK et al., 2012).

β -Glicosidase

Resíduos vegetais são uma das principais fontes da matéria orgânica encontrada no solo e a celulose é um dos compostos orgânicos mais encontrados entre a matéria orgânica. Celulose é uma fibra rígida insolúvel em água, encontrada protegendo as paredes celulares das plantas, é um homopolissacarídeo não ramificado composto por ligações glicosídicas (O'SULLIVAN, 1997).

A degradação microbiológica de celulose requer a ação de no mínimo três grupos de enzimas, incluindo a β -glicosidase, para agir sinergicamente na hidrólise das ligações β -1,4 de celulose em glicose. Glicosidases são amplamente distribuídas em ambientes naturais e foram detectadas em microrganismos, animais e plantas, são muito importantes porque quebram carboidratos de baixo peso molecular, liberando açúcar no solo, porém pouca informação é encontrada sobre o efeito dos agroecossistemas na atividade dessa enzima (DODOR; TABATABAI, 2005).

Entre as glicosidases, a α -glicosidase (EC 3.2.1.20), que catalisa a hidrólise do α - Δ -glicopiranosídeo e a β -glicosidase (EC 3.2.1.21), que catalisa a hidrólise do β - Δ -glicopiranosídeo estão envolvidas na hidrólise de maltose e celulose, respectivamente (DODOR; TABATABAI, 2005). Outras glicosidases são α -galactosidase (EC 3.2.1.23) e β -galactosidase (EC 3.2.1.23), estas enzimas catalisam a hidrólise de melibiose e lactose, respectivamente, mas não estão presentes nos solos em níveis significativos. A β -glicosidase é a mais predominante em solos entre as quatro glicosidases (ERVAZI; TABATABAI, 1988; DODOR; TABATABAI, 2005). A reação catalisada é: β – glicosidase + H_2O = ROH + galactose.

A atividade das enzimas no solo está intimamente ligada à atividade dos microrganismos e práticas de manejo, incluindo tipo de cultura e fertilização (KLOSE; TABATABAI, 2000). Para avaliar as diferenças no solo de diversos agroecossistemas sob diferentes vegetações e/ou práticas agrícolas, o efeito na saúde e qualidade do solo deve ser investigado (DODOR; TABATABAI, 2005). Informações disponíveis sugerem que as práticas de manejo do solo afetam a atividade de glicosidases (TABATABAI, 1994).

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Caracterização das Áreas de Estudo

Foram selecionadas três áreas na principal região produtora de cana-de-açúcar do Brasil onde ocorreram as mudanças de uso da terra de mata nativa para pastagem e desta para cultivo de cana-de-açúcar. A primeira está localizada no município de Jataí-GO ($17^{\circ}56'16''$ S; $51^{\circ}38'31''$ O), a segunda em Valparaíso-SP ($21^{\circ}14'48''$ S; $50^{\circ}47'04''$ O) e a terceira em Ipaussu-SP ($23^{\circ}05'08''$ S; $49^{\circ}37'52''$ O). Por representarem um transecto norte-sul através da região Centro-Sul do país, conforme representado na Figura 1, estes locais passarão a ser denominados pelo seu grau de latitude, ou seja, Lat S 17° ; Lat S 21° e Lat S 23° .

Figura 1 - Localização dos três municípios em que se encontram os locais de estudo.

Descrição dos locais:

Lat S 17°

Predominância do clima Awa, tropical mesotérmico segundo a classificação de Köppen-Geiger com chuvas concentradas no verão (outubro a abril) e um período seco bem definido durante a estação de inverno (maio a setembro). A média anual da precipitação pluvial é de 1.600 mm ano⁻¹, e a temperatura média anual é de 24,0 °C, com temperatura mínima média é 17,5 °C e máxima média de 27,7 °C. (CIIAGRO, 2013). A predominância do solo é Latossolo Vermelho distrófico mesoférico, segundo Santos et al. (2013). A vegetação nativa pertence ao Bioma Cerrado, denominada de Cerradão, é caracterizada pela ocorrência de espécies esclerófilas e xeromórficas. Em relação ao Cerrado *stricto sensu* é uma vegetação mais densa, com árvores de porte mais elevado. A conversão da mata nativa para a pastagem ocorreu no início da década de 1980. As espécies predominantes são do gênero *Brachiaria*, essencialmente *B. decumbens*, *B. brizantha* e *B. ruziziensis*. A lotação média da área é de 1,5 UA ha⁻¹ ao longo do ano todo. O cultivo de cana-de-açúcar foi implantado em parte da área de pastagem descrita acima no ano de 2009. As operações de preparo de solo realizados na conversão da pastagem para o cultivo de cana-de-açúcar foram: aração, subsolagem e gradagem. A cultivar utilizada é a RB855453 a produtividade média obtida desde a implantação da cultura é de 81,5 ton ha⁻¹. Por ocasião da amostragem a cultura apresentava-se no 4º ano do ciclo. O manejo da cultura envolveu a aplicação de 1,6 ton ha⁻¹ de calcário dolomítico antes do plantio e a aplicação de 450 kg ha⁻¹ de fertilizante formulado (22:00:17 NPK), 40 ml ha⁻¹ de fertilizante foliar (10% de N e 10% de P₂O₅) e 50 kg ha⁻¹ de fertilizante nitrogenado líquido (20% N). A fertilização é repetida anualmente. A colheita é mecanizada desde a implantação da cultura, portanto nunca foi realizada a queima pré-colheita.

Lat S 21°

Predominância do clima Aw, tropical úmido segundo a classificação de Köppen-Geiger com chuvas concentradas no verão (outubro a abril) e um período seco bem definido durante a estação de inverno (maio a setembro). A média anual da precipitação pluvial é de 1.240 mm ano⁻¹, e a temperatura média anual é de 23,4 °C, com temperatura mínima média é 16,7 °C e máxima média de 30,1 °C. (CEPAGRI, 2014). A predominância do solo é Argissolo Vermelho Amarelo eutrófico

típico, segundo Santos et al. (2013). A vegetação nativa pertence ao Bioma Mata Atlântica sendo denominada de Floresta Estacional Semidecidual (Floresta Tropical Subcaducifolia). É uma região de transição, onde a floresta apresenta espécies mais xeromórficas que as existentes nas áreas mais úmidas do Mata Atlântica (Floresta Ombrófila) e menos xeromórficas daquelas ocorrentes no Cerrado. A conversão da vegetação nativa para a pastagem ocorreu no início da década de 1980. As espécies predominantes são do gênero *Brachiaria spp.* A lotação média da área é de 2 UA ha⁻¹ ao longo do ano todo. Anualmente são aplicados 120 kg ha⁻¹ de fertilizante formulado (20:5:19 NPK) em cobertura. O cultivo de cana-de-açúcar foi implantado em parte da área de pastagem descrita acima no ano de 2010. As operações de preparo de solo realizados na conversão da pastagem para o cultivo de cana-de-açúcar foram: aração, subsolagem e gradagem. A cultivar utilizada é a SP791011 a produtividade média obtida desde a implantação da cultura é de 80 ton ha⁻¹. Por ocasião da amostragem a cultura apresentava-se no 3º ano do ciclo. O manejo da cultura envolveu a aplicação de 620 kg ha⁻¹ de fertilizante formulado (4:20:20 NPK) no plantio, e 540 kg ha⁻¹ desse mesmo fertilizante no 3º ano. Em 2012 foi aplicado aproximadamente 150 m³ ha⁻¹ de vinhaça em cobertura. A colheita é mecanizada desde a implantação da cultura, portanto nunca foi realizada a queima pré-colheita.

Lat S 23º

Predominância do clima Cwa, tropical segundo a classificação de Köppen-Geiger com chuvas concentradas no verão (outubro a abril) e um período seco bem definido durante a estação de inverno (maio a setembro). A média anual da precipitação pluvial é de 1.470 mm ano⁻¹, e a temperatura média anual é de 21,7 °C, com temperatura mínima média é 15,3 °C e máxima média de 28,1 °C. (CEPAGRI, 2014). A predominância do solo é Nitossolo Vermelho alítico típico, segundo Santos et al. (2013). A vegetação nativa pertence ao Bioma Mata Atlântica sendo denominada de Floresta Estacional Semidecidual (Floresta Tropical Subcaducifolia). É uma região de transição, onde a floresta apresenta espécies mais xeromórficas que as existentes nas áreas mais úmidas do Mata Atlântica (Floresta Ombrófila) e menos xeromórficas daquelas ocorrentes no Cerrado. As espécies predominantes são do gênero *Cynodon spp.* A conversão da vegetação nativa para a pastagem ocorreu no ano de 1979. A lotação média da área é de 1 UA ha⁻¹ ao longo do ano

todo. A cultura da cana-de-açúcar foi implantada em parte da área de pastagem descrita acima no início da década de 1990. As operações de preparo de solo realizados na conversão da pastagem para o cultivo de cana-de-açúcar foram: aração, subsolagem e gradagem. A cultivar utilizada é a CTC 6 e a produtividade média obtida desde a implantação da cultura é de 85 ton ha⁻¹. Por ocasião da amostragem a cultura apresentava-se no 4º ano do ciclo. A fertilização da cultura é realizada aplicando anualmente 200 m³ ha⁻¹ de vinhaça e 100 kg ha⁻¹ de ureia em cobertura. A introdução da colheita mecanizada e, portanto, o fim da queima pré-colheita ocorreu em 2003. A partir de 2013, cerca de 50% da palhada residual da cultura é removida do solo para queima em caldeira e produção de energia elétrica.

Figura 2 - Resumo da descrição dos locais de estudo.

2.2.2 Coleta e Preparo das Amostras para Análises

A amostragem de solo em cada um dos três locais de estudo foi realizada no mês de janeiro de 2013 utilizando um esquema amostral baseado no modelo proposto por Huising et al. (2010) adaptado de Swift e Bignell (2001).

Esse esquema consiste em coletar nove conjuntos de amostras (repetições) dispostas em uma grade quadrangular, com pontos distantes 50 m entre si (Figura 3) em cada uso da terra.

Figura 3 - Disposição do esquema amostral nas áreas de vegetação nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar nos três locais de estudo

Cada ponto amostral de cada uso da terra em cada local consistiu de nove sub-amostras obtidas com trado na camada 0-10 cm do solo, a 3 m e 6 m do ponto central, como representado na Figura 4. Estas nove sub-amostras de cada ponto amostral foram misturadas e homogeneizadas, constituindo uma amostra composta para cada um dos pontos amostrais. Obteve-se, portanto, nove amostras compostas em cada uso da terra nos três locais de estudo.

Figura 4 - Esquema de coleta das sub-amostras que compuseram cada amostra composta de campo

As 81 amostras compostas de campo foram acondicionadas em sacos plásticos com respiro e encaminhadas no mesmo dia ao laboratório para dar-se início à quantificação da biomassa microbiana. Parte, das mesmas amostras, foi destinada às análises enzimáticas e armazenada em isopor com gelo para transporte e depois mantida em refrigeração a -4°C .

2.2.3 Análises Microbiológicas

2.2.3.1 Análise Quantitativa

Biomassa Microbiana do Solo

A quantificação da biomassa microbiana foi realizada no Laboratório de Biogeoquímica Ambiental do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP).

Para a quantificação de CBM e NBM foi aplicado o método da fumigação-extração proposto por Vance, Brookes e Jenkinson (1987) com algumas modificações. O princípio do método presume que a fumigação, considerada esterilização parcial, lisa a membrana plasmática e a parede celular dos microrganismos presentes nas amostras com clorofórmio sem afetar a matéria orgânica não viva.

As amostras da camada 0-10 centímetros tiveram sua umidade ajustada, (capacidade de campo foi mantida a 40%). Amostras duplicadas de 25 g de cada ponto de coleta foram separadas em amostras fumigadas e não-fumigada, em triplicatas, e incubadas por 24h a -0,03 MPa com clorofórmio purificado. Posteriormente as amostras foram submetidas à extração com K_2SO_4 0,5 M. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 5000 rpm, e posteriormente filtradas com seringas de Teflon Millipore contendo tela de *SilkScreen* tratada previamente com K_2SO_4 0,5 M.

Para determinação do CBM e NBM foi utilizado o aparelho TOC - $V_{CPH/CPN}$ acoplado a TNM -1 Shimadzu – 5000A sendo a biomassa microbiana determinada pela diferença entre os valores obtidos nas amostras fumigadas e as não fumigadas. A diferença entre os valores obtidos nas amostras fumigadas e as não fumigadas, com os fatores de correção de $K_C=0,33$ para carbono eq. (1) e $K_C=0,54$ para nitrogênio eq. (2) (BALOTA et al., 1998; SPARLING, 1997).

$$CBM = \frac{(C_F - C_{NF})}{K_C} \quad (1)$$

$$NBM = \frac{(N_F - N_{NF})}{K_N} \quad (2)$$

Onde:

CBM = carbono da biomassa microbiana do solo (mg Kg⁻¹ TSFA)

NBM = nitrogênio da biomassa microbiana do solo (mg Kg⁻¹ TSFA)

C_F e C_{NF} = carbono das amostras fumigadas e não fumigadas

N_F e N_{NF} = nitrogênio das amostras fumigadas e não fumigadas

K_C = fator de correção 0,33 (VANCE; BROOKES; JENKINSON, 1987)

K_N = fator de correção 0,54 (BROOKES et al., 1985)

2.2.3.2 Análises Funcionais

As análises enzimáticas foram realizadas e acompanhadas no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), na Universidade Federal de Viçosa (UFV).

a) Atividade das fosfatases ácida e alcalina

A atividade das fosfatases ácida e alcalina das amostras foi determinada pelo método colorimétrico segundo Tabatabai (1994), o qual visa imitar as condições do ambiente amostral para que a enzima expresse seu potencial em condições naturais no laboratório.

As amostras foram incubadas em banho-maria por uma hora em solução tamponada de *p*-nitrofenil fosfato e tolueno a 37°C por uma hora e medido por espectrofotometria a 400 nm. A concentração de *p*-nitrofenol liberado após reação enzimática foi estimada a partir de uma curva padrão com os níveis de 0; 10; 20; 30; 40; 50; 60; 80; 100 µg *p*-nitrofenol. Os resultados obtidos foram expressos em µg *p*-nitrofenol g solo seco h⁻¹.

b) Atividade da β -glicosidade

Para analisar a atividade da β -glicosidade, também segundo Tabatabai (1994), as amostras foram incubadas por uma hora a 37°C em solução tamponada de *p*-nitrofenil β -D-glicosídeo e tolueno. A leitura foi realizada medindo a intensidade da coloração amarela por espectrofotômetro a 400 nm. A concentração de *p*-nitrofenol liberado após reação enzimática foi estimada a partir de uma curva padrão com os níveis de 0; 10; 20; 30; 40; 50; 60; 80; 100 μ g *p*-nitrofenol. Os resultados obtidos foram expressos em μ g *p*-nitrofenol g solo seco h⁻¹.

2.2.4 Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk ($p < 0,05$) e como estes não apresentaram distribuição normal foram submetidos ao teste não paramétrico Kruskal-Wallis para se verificar a existências de diferenças entre locais e uso do solo, utilizando o programa Statistica (STATSOFT, 1995).

Posteriormente os dados microbiológicos foram submetidos a análise multivariada. Os dados microbiológicos (CBM, NBM e atividade enzimática da β -glicosidase, fosfatase ácida e alcalina) nos diferentes usos do solo foram utilizados para a obtenção do comprimento do gradiente (ACD) e, como este foi menor do que três (resposta linear), optou-se pela Análise de Redundância (RDA), utilizando o programa CANOCO versão 4.0 (TER BRAAK; SMILAUER, 1998).

A Análises de Redundância foi realizada utilizando os atributos químicos (pH, fósforo, enxofre, potássio, cálcio, magnésio, acidez potencial, soma de bases, CTC, saturação de bases, C total, N total e micronutrientes – boro, cobre, ferro, manganês e zinco) e físicos (densidade, areia total, silte e argila), como variáveis ambientais explicativas. As variáveis ambientais que apresentaram correlação significativa ($p < 0,05$) foram selecionadas através de uma seleção automática e utilizadas para a plotagem das figuras (TER BRAAK; SMILAUER, 1998). A RDA demonstra através da relação entre o componente principal 1 (PC1) e o componente principal 2 (PC2) a separação entre os três usos da terra nos três locais estudados.

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Características edafoclimáticas dos locais de estudo

A biota do solo em um sistema de cultivo é em grande parte dependente da capacidade de fornecimento de nutrientes do solo e das exigências das culturas, como pH e temperatura, e é influenciada por vários fatores edáficos incluindo o próprio sistema de cultivo e seu nível de gestão, assim a presença e quantidade de nutrientes em solos depende das características da cobertura, do manejo do solo, de fatores bioquímicos e proporção do tamanho das partículas do solo (KENNEDY; DORAN, 2002).

A conversão de matas nativa para pastagens nesse estudo tiveram um efeito significativo sobre a maioria das propriedades químicas do solo em todos os locais de coleta (Tabela 1), porém houve variações de acordo com o local. Apresentamos na Tabela 1 as principais características dos solos dos locais de estudo, que foram objeto de teses de outros pós-graduandos envolvidos em projetos do Laboratório de Biogeoquímica Ambiental.

Tabela 1 - Características químicas, densidade e textura dos solos estudados, camada 0 -10 cm

	Mata nativa	Pastagem	Cana-de-açúcar
-----Lat S 17°-----			
pH	3,77 (± 0.12) b	3,72 (± 0.07) b	5,06 (± 0.18) a
P (mg dm ⁻³)	5,56 ($\pm 0,86$) a	3,02 ($\pm 0,37$) b	7,31 ($\pm 2,46$) a
K (mmol _c dm ⁻³)	1,02 ($\pm 0,12$) a	0,61 ($\pm 0,13$) b	0,61 ($\pm 0,18$) b
Ca (mmol _c dm ⁻³)	4,24 ($\pm 1,28$) b	3,02 ($\pm 0,78$) b	21,74($\pm 9,32$) a
Mg (mmol _c dm ⁻³)	3,36 ($\pm 0,89$) b	1,62 ($\pm 0,49$) c	9,26 ($\pm 1,93$) a
S (mg dm ⁻³)	4,18 ($\pm 2,47$) b	3,22 ($\pm 1,67$) b	9,67 ($\pm 3,64$) a
C Total (g kg ⁻¹)	15,59 ($\pm 1,36$) aC	9,54 ($\pm 0,81$) bB	10,85 ($\pm 1,12$) bB
N Total (g kg ⁻¹)	1,14 ($\pm 0,14$) aB	0,67 ($\pm 0,11$) bB	0,76 ($\pm 0,27$) bB
Densidade (g cm ⁻³)	1,0 bA	1,2 aA	1,3 aA
Textura*	Média argilosa	Média arenosa	Média argilosa
-----Lat S 21°-----			
pH	6,46 (± 0.56) a	3,96 (± 0.14) c	5,34 (± 0.46) b
P (mg dm ⁻³)	17,33 ($\pm 4,01$) a	7,08 ($\pm 1,69$) b	19,60 ($\pm 5,85$) a
K (mmol _c dm ⁻³)	2,78 ($\pm 0,50$) b	4,17 ($\pm 1,53$) a	3,09 ($\pm 1,03$) ab
Ca (mmol _c dm ⁻³)	101,56 ($\pm 34,93$) a	8,30 ($\pm 1,53$) c	39,02($\pm 8,11$) b
Mg (mmol _c dm ⁻³)	18,62 ($\pm 3,58$) a	5,21 ($\pm 0,99$) b	15,59 ($\pm 3,86$) a
S (mg dm ⁻³)	8,52 ($\pm 1,82$) a	8,46 ($\pm 1,98$) a	5,19 ($\pm 1,60$) b
C Total (g kg ⁻¹)	21,29 ($\pm 2,94$) aB	13,34 ($\pm 1,51$) bB	11,20 ($\pm 1,22$) bB
N Total (g kg ⁻¹)	2,20 ($\pm 0,32$) aA	1,14 ($\pm 0,16$) bB	1,14 ($\pm 0,10$) bB
Densidade (g cm ⁻³)	1,0 bA	1,2 aA	1,2 aA
Textura*	Média arenosa	Média arenosa	Média arenosa
-----Lat S 23°-----			
pH	3,72 (± 0.25) c	4,71 (± 0.06) b	5,49 (± 0.60) a
P (mg dm ⁻³)	14,29 ($\pm 3,26$) a	11,47 ($\pm 3,72$) ab	8,85 ($\pm 2,55$) b
K (mmol _c dm ⁻³)	2,79 ($\pm 1,12$) b	4,35 ($\pm 0,59$) a	3,08 ($\pm 1,02$) b
Ca (mmol _c dm ⁻³)	17,11 ($\pm 6,79$) c	32,58 ($\pm 6,68$) b	47,51 ($\pm 17,97$) a
Mg (mmol _c dm ⁻³)	9,06 ($\pm 3,41$) b	19,88 ($\pm 2,67$) a	20,06 ($\pm 6,98$) a
S (mg dm ⁻³)	15,81 ($\pm 3,86$) a	9,08 ($\pm 3,38$) b	5,56 ($\pm 0,86$) c
C Total (g kg ⁻¹)	36,66 ($\pm 4,68$) aA	36,41 ($\pm 4,16$) aA	18,88 ($\pm 2,87$) bA
N Total (g kg ⁻¹)	3,12 ($\pm 0,48$) aA	2,62 ($\pm 0,48$) aA	1,49 ($\pm 0,17$) bA
Densidade (g cm ⁻³)	0,7 bB	1,0 aB	1,1 aB
Textura*	Argilosa	Muito argilosa	Argilosa

Classes texturais baseadas na quantidade de argila: Arenosa ≤ 150 g kg⁻¹; Média arenosa = 150-249 g kg⁻¹; Média argilosa = 250-349 g kg⁻¹; Argilosa = 350-599 g kg⁻¹; Muito argilosa ≥ 600 g kg⁻¹.

Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Enxofre (S).

Médias seguidas da mesma letra, letras minúsculas entre colunas e letras maiúsculas entre linhas do mesmo atributo, não diferem entre si pela análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$) para os minerais e pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis para o C Total e N Total.

Segundo Fernandes e colaboradores (2002) logo após a conversão da floresta em pastagem no estado de Rondônia houve um aumento do pH por 10 anos seguida por uma tendência a diminuir como consequência da redução de cátions trocáveis, mas ainda continua a ser maior do que os valores de pH das matas nativas por mais de 15 anos. No entanto as pastagens estudadas já têm mais de 30 anos e apenas na Lat S 23° o pH da pastagem apresentou média maior que a da mata nativa. Em todos os locais de cultivo de cana-de-açúcar estudados os resultados do pH encontrados foram semelhantes entre si, devido provavelmente aos manejos de correção do solo.

Em relação a alterações na concentração de nutrientes, verifica-se a tendência de reduzir a fertilidade na pastagem em relação a mata nativa e posteriormente aumentar com o uso de fertilizantes na cana-de-açúcar. Comportamento observado nos minerais, exceto para K, que com posse apenas das informações cedidas pelas usinas não é possível obter clareza do porquê. É notável que a mudança de uso da terra provoca redução do teor de C Total e N Total.

Foi encontrado um alto valor de Ca na mata nativa da região Lat S 21°, atribuímos esse valor a uma possível queimada do sub-bosque da mata que pode ter ocorrido anos atrás. O acúmulo de cinza na superfície, justificaria altos valores de pH, Ca e Mg. E quando as amostragens foram realizadas foi observado resquícios de cinza no solo.

Com base nos dados de densidade e concentração de C e N, foi calculado o estoque de C e N da camada 0-10 cm dos solos dos locais estudados, representados nos Gráficos 1 e 2. A formação de agregados no solo envolve produtos do metabolismo microbiano e radicular, portanto mudanças no uso do solo e a própria qualidade do material orgânico depositado podem alterar as características físicas do solo, modificando a dinâmica de transformação e alocação do C (MARTENS et al., 2000).

Gráfico 1 – Estoque de Carbono Total do solo das áreas de mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar dos três locais estudados. Média (n=9) ± Desvio padrão

Gráfico 2 – Estoque de Nitrogênio Total do solo das áreas de mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar dos três locais estudados. Média (n=9) ± Desvio padrão

As vegetações nativas refletem a capacidade de acúmulo de matéria orgânica (estoque de C e N) em cada região edafoclimática de acordo com o tipo de solo. Pode-se considerar que tanto os estoques como a biomassa microbiana a ele

associada não se alteram ao longo dos anos. Em Lat S 17° a pastagem teve o menor estoque de C, mas o cultivo de cana-de-açúcar foi semelhante à mata nativa, o que pode-se dizer que houve uma recuperação do solo em pouco tempo.

O estoque de C diminui na sequência de mudança dos sistemas de uso da terra na Lat S 21°. Sabemos que houve aplicação de insumos na pastagem, porém o processo de implantação da pastagem provavelmente causou uma perda inicial de C do solo e o pastejo por mais de 20 anos não favoreceu uma recuperação nesse solo de textura média arenosa. Na mudança de pastagem para cultivo de cana-de-açúcar foi utilizada mecanização pesada e altas doses de fertilizantes, fatores que segundo Tormena e colaboradores (2004) podem acelerar a oxidação do C, reduzindo a quantidade de matéria orgânica.

De um modo geral o solo da Lat S 23° tem o maior estoque de C entre os três comparados, provavelmente por ser um solo de textura mais argilosa, pois os estoques de C estão diretamente relacionados à textura do solo. Existe a tendência de quanto mais argilosa a textura maior o estoque devido à proteção física e química que a fração argila exerce sobre a matéria orgânica do solo (FELLER; BEARE, 1997; ROSCOE; MACHADO, 2002). A pastagem é a que apresenta o maior estoque de C e a cana-de-açúcar o menor, contudo não temos informações de como é o manejo dessa pastagem.

Os estoques de C e N estão dentro da faixa mostrada na literatura (ZINN; LAL; RESCK, 2005; BOCHNER et al., 2008; FRAZÃO et al., 2010). Áreas que são convertidas para pastagens e não recebem aplicação de insumos apresentam baixos níveis de matéria orgânica e menor ciclagem de nutrientes em relação à áreas com vegetação nativa (FUJISAKA et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2004, SOUZA et al., 2008, VOLPE et al., 2008). Segundo Desjardins e colaboradores (2004) áreas que tem as pastagens manejadas recuperam a quantidade de matéria orgânica encontrada na vegetação original mais facilmente, aumentando os estoques de C e N no solo, sendo observado essa recuperação por vários trabalhos (MORAES et al., 2002; SILVA et al., 2004; FRAZÃO et al., 2010).

Quando a vegetação nativa é retirada para a conversão da área em sistemas agrícolas os estoques de C e de N contidos nos solos podem ser submetidos a modificações, dependendo do sistema de manejo do solo empregado, esses estoques podem permanecer estáveis, aumentar ou diminuir em relação à mata nativa (FRAZÃO et al., 2010). A aração e a gradagem foram métodos utilizados para

a conversão de pastagem para cultivo de cana-de-açúcar nesse estudo e segundo Bayer e Mielniczuk (1997) essas técnicas podem ser consideradas as mais agressivas para a redução de matéria orgânica.

2.3.2 Biomassa Microbiana do Solo

Pode-se notar no Gráfico 3 que existe uma diminuição do estoque de CBM das matas nativa para as pastagens e um aumento nos cultivos de cana-de-açúcar em Lat S 17° e Lat S 21°. Em Lat S 23° a pastagem apresenta maior CBM do que os outros sistemas de uso da terra. Quanto ao estoque de NBM (Gráfico 4) á uma clara diminuição na mudança de uso da terra para pastagem em Lat S 17° e Lat S 21°, e em Lat S 23° a pastagem é superior a mata nativa e ao cultivo de cana-de-açúcar. Fatores como a variabilidade espacial, os diferentes tipos de solo e clima, as práticas culturais e manejo do solo podem ser responsáveis pelas diferenças nos resultados.

Gráfico 3 – Estoque de Carbono da Biomassa Microbiana do solo das áreas de mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar dos três locais estudados. Média (n=9) ± Desvio padrão

Gráfico 4 – Estoque de Nitrogênio da Biomassa Microbiana do solo das áreas de mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar dos três locais estudados. Média (n=9) $\pm$ Desvio padrão

Quanto a relação CBM/C Total, em nenhum dos locais estudados houve diferença estatística (Tabela 2), sendo possível observar que na Lat S 17° CBM/C Total variou de 2,54% na mata nativa a 3,89% no cultivo de cana-de-açúcar (Tabela 2). Em Lat S 21° a variação foi de 3,29% na pastagem a 4,90% no cultivo de cana-de-açúcar e na Lat S 23° de 5,04% no cultivo de cana-de-açúcar a 5,74% na pastagem.

Anderson (2003) sugere o CBM entre 2,0 e 4,4 % do C total como ideal, dependendo da condição nutricional e de manejo do solo. Brookes et al. (1985) e Insam e Haselwandter (1989) reportam relações de 1,8 a 2,25 % para sistemas de monocultivo anual. Nos locais de estudo a menor relação foi de 2,54% na mata nativa em Lat S 17° e a maior de 5,74% na pastagem de Lat S 23°.

Tabela 2 - Características do carbono e nitrogênio da biomassa microbiana dos solos das regiões estudadas

	Mata nativa	Pastagem	Cana-de-açúcar
----- Lat S 17° -----			
CBM (mg kg ⁻¹)	397,23 (±110,22) aB	301,52 (±135,34) aB	414,81 (±94,80) aB
CBM/C Total (%)	2,54 (±0,67) aB	3,19 (±1,45) aB	3,89 (±1,19) aA
NBM (mg kg ⁻¹)	45,60 (±8,14) aB	22,16 (±1,81) bB	17,14 (±2,62) bB
NBM/N Total (%)	4,00 (±0,88) aA	3,42 (±0,80) abB	2,61 (±1,14) bA
----- Lat S 21° -----			
CBM (mg kg ⁻¹)	870,36 (±278,12) aAB	438,53 (±106,37) bB	539,92 (±160,50) bB
CBM/C Total (%)	4,11 (±1,34) aA	3,29 (±0,70) aB	4,90 (±1,72) aA
NBM (mg kg ⁻¹)	81,88 (±38,97) aAB	28,06 (±8,67) bB	17,47 (±6,43) bB
NBM/N Total (%)	3,71 (±1,81) aAB	2,47 (±0,71) aB	1,54 (±0,57) bA
----- Lat S 23° -----			
CBM (mg kg ⁻¹)	1978,68 (±591,14) aA	2085,87 (±471,84) aA	928,64 (±277,56) bA
CBM/C Total (%)	5,50 (±1,91) aA	5,74 (±1,27) aA	5,04 (±1,70) aA
NBM (mg kg ⁻¹)	84,48 (±25,31) aA	141,48 (±30,91) aA	32,85 (±20,14) bA
NBM/N Total (%)	2,77 (±0,88) bB	5,43 (±0,94) aA	2,17 (±1,12) bA

Médias seguidas da mesma letra, letras minúsculas entre colunas e letras maiúsculas entre linhas do mesmo atributo, não diferem entre si pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis.

Sparling (1997) sugere que a relação CBM/C Total é um indicador mais sensível de mudanças na dinâmica da matéria orgânica de solos submetidos a diferentes práticas de manejo. Goh e colaboradores (2000) afirmam que a relação pode ser um indicador sensível da qualidade do solo, considerando que fatores como tipo de solo, manejo empregado, época de amostragem e métodos de análise podem influenciar na variação dos valores obtidos para a relação CBM/C Total.

Para Vasconcellos, Campolina e Santos (1999), a biomassa microbiana imobiliza mais carbono quando resíduos vegetais são deixados na superfície. Com isso, é possível esperar que, com o decorrer do tempo de cultivo, haja aumento nos valores de CBM em relação ao C Total, principalmente na camada de 0-10 cm.

O aumento da biomassa microbiana do solo permite o armazenamento de nutrientes em sua biomassa, representando um reservatório lábil desses nutrientes (WARDLE; HUNGRIA, 1994; GAMA-RODRIGUES, 1999) e diminuindo as perdas nos sistemas agrícolas. Isso é de especial importância para nutrientes como o N, que passa por transformações intensas (mineralização, nitrificação e desnitrificação) no ambiente, sendo facilmente perdido quando predominam as formas solúveis (ERNANI et al., 2007).

Segundo Franchini e colaboradores (2007) em monocultivos não há grande potencial de imobilização de nitrogênio no solo, porém em rotação de culturas que uma das culturas é uma leguminosa o NBM aumenta em relação ao monocultivo. Esses resultados reafirmam a grande sensibilidade desse índice para as mudanças no uso da terra, principalmente quando a mudança se refere a um monocultivo como a cana-de-açúcar.

A relação NBM/N Total na Lat S 17° a mata nativa e o cultivo de cana-de-açúcar são diferentes estatisticamente, enquanto que a pastagem é um intermediário. Na Lat S 21° esse atributo apresentou diminuição no cultivo de cana-de-açúcar em relação à mata nativa e a pastagem. Já em Lat S 23° a relação NBM/N Total foi de 5,43% na pastagem, a maior média dos solos estudados, provavelmente por esse ser o solo mais argiloso estudado e isso aumenta a retenção de nutrientes o que aumenta a disponibilidade dos mesmos para a biomassa microbiana.

A relação NBM/N Total está dentro da faixa de 1% a 7% (FAUCI; DICK, 1994), variando de 1,54% para o cultivo de cana-de-açúcar em Lat S 21° a 5,43% na pastagem em Lat S 23°. Um solo que apresenta a matéria orgânica de boa qualidade apresenta essa relação alta, pois existe uma maior imobilização do nitrogênio pela biomassa microbiana (VANCE; CHAPIN III, 2001).

A maior relação NBM/N Total representa maior capacidade da microbiota do solo em imobilizar o nitrogênio disponível em sua biomassa, representando uma fração lábil deste nutriente para as plantas (WARDLE; HUNGRIA, 1994; GAMA-RODRIGUES, 1999; DE-POLLI; GUERRA, 1999; GOH et al., 2000). A relação entre o NBM e o N Total oferece uma estimativa da quantidade de nutriente, disponibilidade de substrato e a dinâmica da matéria orgânica no solo, pois, quanto maior esta relação, melhor será a qualidade da matéria orgânica (SPARLING, 1997).

2.3.3 Atividade Enzimática

a) Atividade Enzimática da Fosfatase Ácida e Alcalina

Quando as células microbianas enfrentam pressões para reduzir as demandas energéticas um mínimo de 2% do carbono assimilado é destinado a geração de enzimas extracelulares para sustentar a biomassa, sendo assim Schimel e Weintraub (2003) definiram a produção de enzimas como a primeira prioridade na alocação de C para os microrganismos. Descreveram que a biomassa aumenta até todo carbono disponível ser consumido para satisfazer os requisitos de manutenção e crescimento, a partir de então a produção de enzimas é reduzida para perto de zero, a decomposição da matéria orgânica começa a diminuir e biomassa microbiana diminui.

É possível dizer que quando o solo apresenta uma maior quantidade de argila maior a atividade enzimática, pois as enzimas extracelulares continuam a atividade quando aderidas as partículas de argila (SARKAR; LEONOVIEZ, 1989; GIANFREDA, et al., 2002; TORSVIK; OVREAS, 2002; DICK; KANDELER, 2005). Sendo assim a observação da classe textural (Tabela 1) dos solos dos locais amostrados na região centro-sul confirma a maior atividade da fosfatase ácida (Tabela 3) na mata nativa e na pastagem para o local Lat S 23°, ou seja, apesar do solo apresentar textura argilosa o cultivo de cana-de-açúcar é o uso da terra que tem a menor atividade dessa enzima em comparação com a mata nativa e a pastagem.

Tabela 3 - Atividade da fosfatase ácida e alcalina do solo da mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar nos três locais coletados. Unidade: $\mu\text{g p-nitrofenol g solo seco h}^{-1}$

	Mata nativa	Pastagem	Cana-de-açúcar
-----Lat S 17°-----			
Fosf. Ácida	189,05 ($\pm 31,83$) aB	153,84 ($\pm 37,62$) abB	126,97 ($\pm 14,58$) bB
Fosf. Alcalina	16,19 ($\pm 5,49$) aB	5,02 ($\pm 6,90$) bB	9,50 ($\pm 7,69$) abC
-----Lat S 21°-----			
Fosf. Ácida	151,00 ($\pm 26,79$) bB	303,78 ($\pm 72,07$) aA	253,37 ($\pm 28,50$) aA
Fosf. Alcalina	195,49 ($\pm 41,01$) aA	250,55 ($\pm 55,11$) aA	261,32 ($\pm 53,41$) aA
-----Lat S 23°-----			
Fosf. Ácida	331,86 ($\pm 157,82$) aA	322,05 ($\pm 22,96$) aA	170,85 ($\pm 40,51$) bB
Fosf. Alcalina	172,24 ($\pm 51,03$) aA	154,07 ($\pm 22,60$) aA	82,43 ($\pm 29,73$) bB

Médias seguidas da mesma letra, letras minúsculas entre colunas e letras maiúsculas entre linhas do mesmo atributo, não diferem entre si pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis.

Segundo Purcena et al., 2014, a quantidade de areia e silte no solo agrícola é um indicativo da possível redução da atividade da fosfatase ácida, esta descoberta é importante porque o conhecimento de como o manejo afeta as características bioquímicas em solo pode permitir o uso de novas estratégias para as técnicas agrícolas reduzirem o impacto na qualidade do solo. É possível dizer que existe um impacto no solo da região centro-sul que tende a diminuir a atividade das fosfatases em cultivo de cana-de-açúcar.

Dada a necessidade dos microrganismos para maximizar a relação custo e benefício de produção de enzimas, é provável que exista grande vantagem seletiva na produção de enzimas extracelulares que geram recursos que estão em falta devido ao estresse fisiológico (TIEMANN; BILLINGS, 2011). Na ausência de substrato o déficit energético resultante da síntese de enzima e consecutiva secreção poderia ser fatal. Sob estas condições, é provável que a célula redirecione os seus esforços para processos que mantêm a integridade e viabilidade celular. Na verdade, a secreção de níveis muito baixos de enzimas extracelulares poderia manter a capacidade do microrganismo para detectar e responder a alterações na disponibilidade de substrato, mas apenas em curto prazo (ALLISON et al., 2011).

Segundo Tabatabai (1994) o pH ótimo para uma enzima não é o mesmo pH do solo, entretanto a atividade enzimática depende do pH do solo que afeta a ionização adequada, expressão, a estabilidade da enzima, e a liberação pelos

microrganismos do solo. Purcena e colaboradores (2014) mostram que o pH ótimo para a enzima pode variar de acordo com as principais características do solo.

Observando o pH dos solos amostrados (Tabela 1) é possível notar que a maior atividade da fosfatase ácida está nos solos ácidos como os da pastagem, pois existe uma diferença na atividade dessa enzima nos solos da pastagem e do cultivo de cana-de-açúcar. O cultivo de cana-de-açúcar está com um pH entre 5 e 5,49 e apresenta a menor atividade da fosfatase ácida.

A alteração do uso da terra causa grande impacto na atividade das enzimas presentes no solo, e esse impacto inicial é negativo, já que o primeiro ato de uma transição é a retirada da cobertura vegetal (REJSEK et al., 2012). Colvan, Syers e O'Donnell (2001) dá ênfase de que a principal fonte de fosfatase ácida em pastagens são as raízes das plantas, portanto quanto maior o tempo em que existe vegetação sem revolvimento é o suficiente para estabelecer a atividade enzimática no solo e se equiparar ao ecossistema inicial.

Segundo Rodriguez et al. (2006) os microrganismos são a principal fonte em terras aráveis, pois em terras aráveis existe um fluxo muito grande de matéria orgânica, não sendo possível a estabilidade de raízes como a principal fonte da enzima. Sendo assim os microrganismos se estabelecem como os principais responsáveis pela atividade das fosfatases e tem uma menor atividade já que esses solos estão sob contínua atividade antrópica.

Segundo Reijek et al. (2012) quando existe uma relação espacial próxima entre os microrganismos e as raízes das plantas a atividade de cada componente é aumentada devido a interação entre eles, esse efeito foi primeiramente descrito por Dodd et al. (1987) mostrando que a atividade das fosfatases podem ser maiores na rizosfera de colza, trigo e cebola na presença do fungo micorrízicos *Glomus sp.* do que em plantas não-inoculadas. Mawdsley e Burns (1994) mostraram que as taxas de atividade da fosfatases foram aumentadas devido a uma estimulação da atividade da fosfatase liberada pela raiz em interação direta com o fungo, que também é atraído pela produção de fosfatase.

A análise da atividade da fosfatase alcalina em relação aos usos do solo na região Lat S 17° teve diferença significativa entre mata nativa e pastagem, sendo que a menor atividade desse atributo foi encontrado na pastagem dessa região, é possível observar na Tabela 1 que o pH desse uso da terra é ácido (3,72) e que a textura é média arenosa, o que pode explicar essa baixa atividade enzimática. Na

área Lat S 21° não houve diferença significativa. Na região Lat S 23° o cultivo de cana-de-açúcar apresentou menor atividade enzimática que a mata nativa e a pastagem.

Singh, Walker e Wright (2001) e Sannino e Gianfreda (2001) descreveram uma diminuição significativa na atividade enzimática das fosfatases em agroecossistemas após o uso de determinados pesticidas, como o clorotalonil e glifosato. Já Colvan, Syers e O'Donnell (2001) mostraram que só existe correlação positiva entre biomassa microbiana e atividade das enzimas fosfatase ácida e alcalina em solos que não possuem adubação fosfatada, independente dos agroquímicos usados. Porém os efeitos dos agroquímicos são muito divergentes dependendo do autor e da pesquisa, e não podem ser considerados o principal fator de diminuição ou aumento da atividade enzimática, informações detalhadas são fornecidas por Schäffer (1993), que resumiu a pesquisa mundial em agroquímicos e enzima do solo.

b) Atividade Enzimática da β -Glicosidade

Mullen et al. (1998) relataram que agrossistemas de cobertura aumentam significativamente diversas atividades enzimáticas em relação a nenhuma cobertura em plantio direto de milho, ou seja, sistemas de cultivo que deixam resíduos na superfície do solo aumentam a atividade enzimática proveniente de microrganismos, provavelmente, o que leva à proliferação microbiana é o aumento da concentração de compostos de carbono orgânico. Foi relatado que o resíduo da cultura afeta a atividade da enzima e culturas de cobertura aumentam a atividade das glicosidases, importantes agentes na decomposição de celulose (MOORE; KLOSE; TABATABAI, 2000).

A análise da atividade da β -glicosidase em relação aos usos do solo (Tabela 4) não apresentou diferença significativa em Lat S 17°. Já em Lat S 21°, a maior atividade da enzima na pastagem e se diferenciou significativamente da mata nativa e do cultivo de cana-de-açúcar. Em Lat S 23° houve diferença significativa entre a mata nativa e os outros dois usos da terra, sendo que a mata nativa apresenta aproximadamente quatro vezes maior atividade da β -glicosidase do que a pastagem, e aproximadamente oito vezes mais atividade que o cultivo de cana-de-açúcar.

Tabela 4 - Atividade da β -glicosidase do solo da mata nativa, pastagem e cultivo de cana-de-açúcar nos três locais coletados. Unidade: $\mu\text{g p-nitrofenol g solo seco h}^{-1}$

	Mata nativa	Pastagem	Cana-de-açúcar
Lat S 17°	49,69 ($\pm 6,82$) aC	39,99 ($\pm 4,82$) aC	47,18 ($\pm 12,63$) aB
Lat S 21°	122,59 ($\pm 19,04$) bB	273,20 ($\pm 43,94$) aA	200,63 ($\pm 27,60$) bA
Lat S 23°	411,01 ($\pm 232,24$) aA	115,72 ($\pm 12,78$) bB	53,78 ($\pm 11,72$) bB

Médias seguidas da mesma letra, letras minúsculas entre colunas e letras maiúsculas entre linhas, não diferem entre si pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis.

Segundo Moore, Klose e Tabatabai (2000) a aplicação de adubos afeta diretamente a composição da estrutura microbiana na comunidade do solo. Afirmam, de acordo com as evidências, que as comunidades microbianas são indiretamente afetadas pelas mudanças na composição da planta. Porém, como no estudo apresentado, em geral, as atividades de glicosidases não são estatisticamente afetadas após a recomposição do solo.

2.3.4 Análise multivariada – Análise de redundância

A Análise de Redundância (Figura 4) demonstra através da relação dos eixos 1 (74,7%) e 2 (18,6%), uma correlação significativa dos atributos microbiológicos (C Total, N Total, CBM, NBM, β -glicosidase, Fosfatase ácida e alcalina) e os atributos físico e químicos (argila, H+Al, C, N, SB, K, pH e CTC). Os locais amostrados também estão plotados na Análise de Redundância, sendo possível verificar que os locais de estudo estão agrupados distintamente e correlacionados ou não com os atributos microbiológicos e os atributos físico e químicos. Os atributos β -glicosidase, Fosfatase ácida e alcalina estão correlacionadas com CTC, pH, K e SB, que por sua vez estão correlacionados com os sistemas de uso da terra da Lat S 21°. Enquanto CBM, N Total, C Total, NBM estão correlacionadas com S, argila e acidez do solo (H + Al) que se correlacionam com os sistemas de uso da terra da Lat S 23°. Por outro lado, os sistemas de uso da terra da Lat S 17° não estão correlacionadas com nenhum dos atributos microbiológicos e físicos e químicos analisados.

Figura 5 - Análise de redundância dos atributos microbiológicos e físico-químicos dos locais estudados. MN para mata nativa; PA para pastagem e CN para cultivo de cana-de-açúcar

Baretta e colaboradores (2005) afirma que o CBM é um indicador rápido da interferência antrópica. Existe alta correlação canônica entre atributos biológicos e químicos do solo nas áreas estudadas por Maluche-Baretta, Amarante e Klauberg (2006), com destaque para o CBM, entre os atributos biológicos, e para o pH, e alumínio, entre os atributos químicos (MALUCHE-BARETTA; AMARANTE; KLAUBERG, 2006).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O impacto da mudança de uso da terra sobre os atributos microbiológicos do solo é diferente em cada região edafoclimática considerada (Figura 6).

Atributos quantitativos			Atributos funcionais		
	CBM	NBM	Fosfatase ácida	Fosfatase alcalina	β -glicosidase
	---- Mg ha ⁻¹ ----		----- μ g p-nitrofenol g solo seco ⁻¹ h ⁻¹ -----		
Lat S 17°		●	●	●	●
	<	●	<	●
	●	<	●	●
Lat S 21°		●	●	●	●
	<	>	●	>
	●	>	●	●
Lat S 23°		●	●	●	●
	>	●	●	<
	<	<	<	<

Figura 6 – Quadro resumo dos atributos microbiológicos analisados, indicando pelos sinais de maior e menor quando ocorreram diferenças estatisticamente significativas dos usos da terra em relação à mata nativa

Nos casos analisados, as diferenças locais ou edafoclimáticas tiveram maior influência nos atributos microbiológicos considerados do que os usos da terra para agrupar as amostras na análise multivariada. Isto significa que os mesmos usos da terra em diferentes locais não podem ser analisados como repetições.

Sendo assim pode-se concluir que nos casos analisados o impacto da mudança de uso da terra de pastagem para cultivo de cana-de-açúcar se manifestou de forma diferente em cada local, não permitindo uma generalização.

Diferenças edafoclimáticas, diferentes tipos e intensidades de usos da terra são característicos de cada região e determinantes para os atributos microbiológicos.

REFERÊNCIAS

ALTIERI, M. **Agroecologia**: a dinâmica produtiva da agricultura sustentável. 4.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2004. 117p.

ADAMI, M.; RUDORFF, B.F.T.; FREITAS, M.P.; AGUIAR, D.A.; SUGAWARA, L.M.; MELLO, M.P. Remote sensing time series to evaluate direct land use change of recent expanded sugarcane crop in Brazil. **Sustainability**, Brasília, v. 4, p. 574-585, 2012. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2071-1050/4/4/574>>. Acesso em: 14 maio 2013.

ALLISON, S.D.; TRESEDER, K.K. Warming and drying suppress microbial activity and carbon cycling in boreal forest soils. **Global Change Biology**, Oxford, v. 14, p. 2898-2909, 2008.

ALLISON, S.D.; WEINTRAUB, M.N.; GARTNER, T.B.; WALDROP, M.P. Evolutionary economic principles as regulators of soil enzyme production and ecosystem function. In: SHUKLA, G.; VARMA, A. (Ed.). **Soil Enzymology**, New York, 2011. p. 229-243.

ANDERSON, T-H. Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 98, p. 285-293, 2003.

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

ANDRADE, D.S.; COLOZZI-FILHO, A.; PAVAN, M.A.; BALOTA, E.L.; CHAVES, J.C.D. Atividade microbiana em função da calagem em um solo cultivado com cafeeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 19, p. 191-196, 1995.

ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M. Bioindicadores para uma análise de risco ambiental. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 34, p. 11-19, 2005.

ARAUJO, A.S.F.; SILVA, E.F.L.; NUNES, L.A.P.L.; CARNEIRO, R.F.V. The effect of converting native savanna to *Eucalyptus grandis* forest on soil microbial biomass in tropics. **Land Degradation and Development**, New York. v. 21, n. 6, p. 540-545, 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ldr.993/full>>. Acesso em: 6 nov. 2013.

ARAUJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Biosciense Journal**, Uberlândia, n. 3, v. 23, p. 66-75, 2007.

BALOTA, E.L.; AULER, P.A.M. Soil microbial biomass under different management and tillage systems of permanent intercropped cover species in an orange orchard. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 6, p. 1873-1883, 2011.

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

BALOTA, E.L.; KANASHIRO, M.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; DICK, R.P. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 300-306, 2004.

BARDGETT, R.D.; YEATES, G.W.; ANDERSON, J.M. Patterns and determinants of soil biological diversity. In: BARDGETT, R.D.; USHER, M.B.; HOPKINS, D.W. (Ed.). **Biological Diversity and Function in Soil**. Cambridge: Cambridge University Press, 2005. chap. 6, p. 100-118.

BARETTA, G.; SANTOS, J.C.P.; FIGUEIREDO, S.R.; KLAUBERG-FILHO, O. Efeito do monocultivo de *Pinus* e da queima do campo nativo em atributos biológicos do solo no planalto sul catarinense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, p. 715-724, 2005.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Características químicas do solo afetadas por métodos de preparo e sistemas de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, p. 105-112, 1997.

BEARE, M.H. Fungal and bacterial pathways of organic matter decomposition and nitrogen mineralization in arable soils. In: BRUSSAARD, L.; FERRERA-CERRATO, R. (Ed.). **Soil Ecology in Sustainable Agricultural Systems**. Boca Raton: CRC/Lewis Publishers, 1997. p. 37-70.

BERTHRONG, S.T.; SCHADT, C.W.; PINEIRO, G.; JACKSON, R.B. Afforestation alters the composition of functional gene in soil and biogeochemical processes in South American Grasslands. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 75, n. 19, p. 6240-6248, 2009.

BERNOUX, M.; CARVALHO, M.C.S.; VOLKOFF, B.; CERRI, C.C. Brazil's Soil Carbon Stocks. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 66, p. 888-896, 2002.

BOCHNER, J.K.; FERNANDES, M.M.; PEREIRA, M.G.; BALIEIRO, F.C.; SANTANA, I.K.S. Matéria orgânica e agregação de um planossolo sob diferentes coberturas florestais. **Cerne**, Lavras, v. 14, n. 1, p. 46-53, jan./mar. 2008.

BOLTON, H. JR.; FREDRICKSON, J.K.; ELLIOTT, L.F. Microbial ecology of the rhizosphere. In: METTING, F.B. (Ed.). **Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management**. New York: Marcel Dekker, 1992. p. 27-63.

BROOKES, P.C.; CAYUELA, M.L.; CONTIN, M.; NOBILI, D.M.; KEMMITT, S.J.; MONDINI, C. The mineralization of fresh and humified soil organic matter by the soil microbial biomass. **Waste Management**, Philadelphia, v. 28, n. 4, p. 716-722, 2008.

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

CALDWELL, B.A.; GRIFFITHS, R.P.; SOLLINS, P. Soil enzyme response to vegetation disturbance in two lowland Costa Rican soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, p. 1603-1608, 1999.

CARTER, M.R. Microbial biomass as an index for tillage-induced changes in soil biological properties. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 7, p. 29-40, 1986.

CARVALHO, F. **Atributos bioquímicos como indicadores da qualidade de solo em florestas de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. no estado de São Paulo**. 2005. 79p. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 14, n. 2, p. 133-142, 1990.

CEPAGRI - **Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas à Agricultura**. CIDADE UNIVERSITÁRIA "ZEFERINO VAZ" (Campinas/SP) (Org.). 2014. Disponível em: <<http://www.cepagri.unicamp.br/>>. Acesso em: 25 mar. 2013.

CIIAGRO – **Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas**. Disponível em: <<http://www.ciiagro.sp.gov.br/zoneamento/sorgo.htm>>. Acesso em: 25 mar. 2013.

COLVAN, S.R.; SYERS, J.K.; O'DONNELL, A.G. Effect of long-term fertiliser use on acid and alkaline phosphomonoesterase and phosphodiesterase activities in managed grassland. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 34, p. 258-263, 2001.

D'ANDREA, A.F.; SILVA, M.L.N.; CURTI, N.; SIQUEIRA, J.O.; CARNEIRO, M.A.C. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 913-923, 2002.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J.G.M. C, N e P na biomassa microbiana do solo. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo – Ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre, Genesis, 1999. p. 389-411.

DESJARDINS, T.; BARROS, E.; SARRAZIN, M.; GIRARDIN, C.; MARIOTTI, A. Effects of forest conversion to pasture on soil carbon content and dynamics in Brazilian Amazonia. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 103, p. 365-373, 2004.

DICK, R.P.; KANDELER, E. Enzymes in soils. In **Encyclopedia of Soils in the Environment**. HILLEL, D. (Ed.). Elsevier: Oxford, UK, 2005. p. 448-455.

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

DODD, J.C.; BURTON, C.C.; BURNS, R.G.; JEFFRIES, P. Phosphatase-activity associated with the roots and the rhizosphere of plants infected with vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, Oxford, v. 107, p. 163-172, 1987.

DODOR, D.E.; TABATABAI, M.A. Effect of cropping systems on phosphatases in soil. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, New York, v. 166, p. 7-13, 2003.

DODOR, D.E.; TABATABAI, M.A. Glycosidases in soils as affected by cropping systems. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, New York, v. 168, p. 749-758, 2005.

EGESKOG, A.; FREITAS, F.; WIRSENIUS, G.; BERNDES, G.; SPAROVEK, S. Greenhouse gas balances and land use changes associated with the planned expansion (to 2020) of the sugarcane ethanol industry in São Paulo, Brazil. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 63, p. 280-290, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.01.030>>. Acesso em: 05 jun. 2014.

ERNANI, P.R.; BAYER, C.; ALMEIDA, J.A.; CASSOL, P.C. Mobilidade vertical de cátions influenciada pelo método de aplicação de cloreto de potássio em solos com carga variável. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 393-402, 2007.

ERVAZI, F.; TABATABAI, M.A. Glucosidases and galactosidases in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 20, n. 5, p. 601-606, 1988.

FAUCI, M.F.; DICK, R.P. Soil microbial dynamics: short-term and long-term effects of inorganic and organic nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.58, p.801-806, 1994.

FEIGL, B.J.; CERRI, C.C.; BERNOUX, M. Balanço de carbono e biomassa microbiana em solos da Amazônia. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Ed.). **Ecologia Microbiana**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. p. 423-441.

FELLER, C.; BEARE, M.H. Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. **Geoderma**, Amsterdam, v. 79, p. 69-116, 1997.

FERNANDES, S.A.P.; BERNOUX, M.; CERRI, C.C.; FEIGL, B.J.; PICCOLO, M.C. Seasonal variation of soil chemical properties and CO₂ and CH₄ fluxes in unfertilized and P-fertilized pastures in an Ultisol of the Brazilian Amazon. **Geoderma**, Amsterdam, v. 107, p. 227-241, 2002.

FERREIRA, E.A.; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C.; RAMOS, M.L.G. Dinâmica do carbono da biomassa microbiana em cinco épocas do ano em diferentes sistemas de

manejo do solo no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1625-1635, 2007.

FINZI, A.C.; MOORE, D.J.P.; DELUCIA, E.H.; LICHTER, J.; HOFMOCKEL, K.S.; JACKSON, R.B.; KIM, H.S.; MATAMALA, R.; MCCARTHY, H.R.; OREN, R.; PIPPEN, J.S.; SCHLESINGER, W.H. Progressive nitrogen limitation of ecosystem processes under elevated CO₂ in a warm-temperate forest. **Ecology**, Camberra, v. 87, p. 15-25, 2006.

FISCHER, G.; TEIXEIRA, E.; HIZSNYIK, E.T.; VAN VELTHUIZEN, H. Land use dynamics and sugarcane production. In: ZUURBIER, P.; VOOREN, J. (Ed.) **Sugarcane Ethanol: Contributions to Climate Change Mitigation and the Environment**. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 2008. p. 29-62.

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

FRAZÃO, L.A.; SANTANA, I.K.S.; CAMPOS, D.V.B.; FEIGL, B.J.; CERRI, C.C. Estoques de carbono e nitrogênio e fração leve da matéria orgânica em Neossolo Quartzarênico sob uso agrícola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.10, p.1198-1204, out. 2010.

FUJISAKA, S.; CASTILLA, C.; ESCOBAR, G.; RODRIGUES, V.; VENEKLAAS, E.J.; THOMAS, R.; FISHER, M. The effects of forest conversion on annual crops and pastures: Estimates of carbon emissions and plant species loss in a Brazilian amazon colony. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 69, p. 17-26, 1998.

GAMA-RODRIGUES, E.F. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis, 1999. p.227-244.

GBEP - **GLOBAL BIOENERGY PARTNERSHIP**. The global bioenergy partnership sustainability indicators for bioenergy. 2011. 211p. Disponível em: <http://www.globalbioenergy.org/fileadmin/user_upload/gbep/docs/Indicators/The_GBEP_Sustainability_Indicators_for_Bioenergy_FINAL.pdf>. Acesso em: 28 mar. 2013.

GIANFREDA, L.; RAO, M.A.; SANNINO, F.; SACCOMANDI, F.; VIOLANTE, A. Enzymes in soil: properties, behavior and potential applications. Developments in Soil Science. In: VIOLANTE, A.; HUANG, P.M.; BOLLAG, J.M.; GIANFREDA, L. (Ed.). **Ecological significance of the interactions among clay minerals, organic matter and soil biota**. In: Symposium on soil mineral-organic matter-microorganism interactions and ecosystem health, 3rd, 2002. Naples-Capri, Italy, v. 28B, 2002. p. 301-327.

GOH, K.M.; BRUCE, G.E.; DALY, M.J.; FRAMPTON, C.M.A. Sensitive indicators of soil organic matter sustainability in orchard floors of organic, conventional and integrated apple orchards in New Zealand. **Biological Agriculture and Horticulture**, New York, v. 17, p. 197-205, 2000.

GOLDEMBERG, J.; COELHO, S.T.; GUARDABASSI, P.M. The sustainability of ethanol production from sugarcane. **Energy Policy**, London, v. 36, p. 2086-2097, 2008.

GOLDEMBERG, J.A.N.; MELLO, F.F.C.; CERRI, C.E.P.; DAVIES, C.A.; CERRI, C.C. Meeting the global demand for biofuels in 2021 through sustainable land use change policy. **Energy Policy**, London, v. 68, p. 14-18, 2014.

GRIFFITHS, R.P.; CALDWELL, B.A.; SOLLINS, P. Effects of vegetation regime denitrification potential in two tropical volcanic soils. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 16, p. 157-162, 1993.

HE, X. Y.; SU, Y.; LIANG, Y.; CHEN, X.; ZHUA, H.; WANG, K. Land reclamation and short-term cultivation change soil microbial communities and bacterial profiles. **Society of Chemical Industry**, London, v. 92, n. 5, p. 1103-1111, 2012.

HENROT, J.; ROBERTSON, G.P. Vegetation removal in two soils of the humid tropics: effect on microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 26, p. 111-116, 1994.

HOFMANN, E. The analyses of enzymes in soils. In: LINSKENS, H.F.; TRACEY, M.V. (Ed.). **Moderne Methoden der Pflanzenanalyse**. v. 6. Springer Verlag Berlin, 1963, p. 416-423.

HUISING, E.J.; COE, R.; CARES, J.E.; LOUZADA, J.N.C.; ZANETTI, R.; MOREIRA, F.M.S.; SUSILO, F.; KONATÉ, S.; NOORDWIJK, M.V.; HUANG, S.P. Estratégia e modelo de amostragem para avaliar a biodiversidade do solo. In: MOREIRA, F.M.S.; HUISING, E.J.; BIGNELL, D.E. (Ed.). **Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da biodiversidade**. Lavras: UFLA, 2010. cap. 2, p. 43-77.

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

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

JACKSON, L.E.; CALDERON, F.J.; STEENWERTH, K.L.; SCOW, K.M.; ROLSTON, D.E. Responses of soil microbial processes and community structure to tillage events and implications for soil quality. **Geoderma**, Amsterdam, v. 114, p. 305-317, 2003.

JENKINSON, D.S.; LADD, J.N. Microbial biomass in soils: measurement and turnover. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N. (Ed.). **Soil Biochemistry**, New York, v. 5, p. 415-471, 1981.

JESUS, E.D.C.; MARSH, T.L.; TIEDJE, J.M.; MOREIRA, F.M.S. Changes in land use alter the structure of bacterial communities in western Amazon soils. **International Society for Microbial Ecology Journal**, London, v. 3, n. 9, p. 1004-1011, 2009.

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

KENNEDY, A.C.; DORAN, J.W. Sustainable agriculture: role of microorganisms. In BITTON, G. (Ed.). **Encyclopedia of Environmental Microbiology**. New York: John Wiley, 2002. p. 3116-3126.

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, Lunenburg, v. 19, p. 707-713, 2005.

KLOSE, S; TABATABAI, M.A. Urease activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 31, p. 191-199, 2000.

LAPOLA, D.M.; SCHALDACHA, R.; ALCAMOA, J.; BONDEAUD, A.; KOCHA, J.; KOELKINGA, C.; PRIESS, J.A. Indirect land-use changes can overcome carbon savings from biofuels in Brazil. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, California, v. 107, p. 3388-3393, 2010.

MACEDO, I.C. Sugarcane's energy: Twelve studies on Brazilian sugarcane agribusiness and its sustainability. **União da Agroindústria Canavieira de São Paulo**, São Paulo, 2005. 195p.

MALUCHE-BARETTA, C.R.D.; AMARANTE, C.V.T.; KLAUBERG, O.F. Análise multivariada de atributos do solo em sistemas convencional e orgânico de produção de maçãs. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 10, p. 1531-1539, out. 2006.

MARINARI, S.; MANCINELLI, R.; CAMPIGLIA, E.; GREGO, S. Chemical and biological indicators of soil quality in organic and conventional farming systems in central Italy. **Ecological Indicators**, Philadelphia, v. 6, n. 4, p. 701-711, 2006.

MARTENS, D.A. Plant residues biochemistry regulates soil carbon cycling and carbon sequestration. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, p. 361-369, 2000.

MARTINELLI, L.A.; FILOSO, S. Expansion of sugarcane ethanol production in Brazil: environmental and social challenges. **Ecological Applications**, Washington, v. 18, n.4, p. 885-898, 2008.

- MARTINS, L.C.; LATORRE, M.R.D.O.; CARDOSO, M.R.A.; GONÇALVES, F.L.T.; SALDIVA, P.H.N.; BRAGA, A.L.F. Poluição atmosférica e atendimentos por pneumonia e gripe em São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, p. 88-94, 2002.
- MARUMOTO, T.; ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. Mineralization of nutrients from soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 14, p.469-475, 1982.
- MATSUOKA, M.; MENDES, I.C.; LOUREIRO, M.F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 425-433, 2003.
- MATTOS, M.L.T.; NUNES, C.D.M.; STEINMETZ, S.; MARTINS, J.F.S.; VIEIRA-JUNIOR, R.V.; FACIO, M.L.P.; SILVA, M.F. Atividade de microrganismos do solo em diferentes períodos de cultivo do arroz irrigado. **Circular Técnica**, Pelotas, v. 126, n. 1, p. 1-5, 2011.
- MAWDSLEY, J.L.; BURNS, R.G. Inoculation of plants with a *Flavobacterium* species results in altered rhizosphere enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 26, n. 7, p. 871-882, 1994.
- MENDES, I.C.; SOUZA, L.V.; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C. Propriedades biológicas em agregados de um latossolo vermelho-escuro sob plantio convencional e direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 435-443, 2003.
- MOORE, J.M.; KLOSE, S.; TABATABAI, M.A. Soil microbial biomass carbon and nitrogen as affected by cropping systems. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 31, p. 200-210, 2000.
- MORAES, J.F.L.; NEILL, C.; VOLKOFF, B.; CERRI, C.C.; MELILLO, J.; LIMA, V.C.; STEUDLER, P.A. Soil carbon and nitrogen stocks following forest conversion to pasture in the western Brazilian Amazon basin. **The Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1369-1376, 2002.
- MULLEN, M.D.; MELHORN, C.G.; TYLER, D.D.; DUCK, B.N. Biological and biochemical soil properties in no-till corn with different cover crops. **Journal of Soil and Water Conservation**, Barking, v. 53, n. 3, p. 219-224, 1998.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; DA FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, v. 403, p. 853-858, 2000.
- NAVARRETE, A.A.; TAKETANI, R.G.; MENDES, L.W.; CANNAVAN, F.S.; MOREIRA, F.M.S.; TSAI, S.M. Land-use systems affect Archaeal community structure and functional diversity in western Amazon soils. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 1527-1540, 2011.

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

NOVACANA (Paraná) (Org.). Demanda de terras para aumento da produção de etanol e açúcar. 2014. Disponível em: <<http://www.novacana.com/sustentabilidade/demanda-terras-aumento-producao-etanol-acucar/>>. Acesso em: 07 jun. 2014.

NUNES, J.S.; ARAUJO, A.S.F.; NUNES, L.A.P.L.; LIMA, L.M.; CARNEIRO, R.F.V.; SALVIANO, A.A.C.; TSAI, S.M. Impact of land degradation on soil microbial biomass and activity in northeast Brazil, **Pedosphere**, Dordrecht, v. 22, p. 88-95, 2012.

OLIVEIRA, O.C.; OLIVEIRA, I.P.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Chemical and biological indicators of decline/degradation of Brachiaria pastures in the Brazilian Cerrado. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 103, p. 289-300, 2004.

O'SULLIVAN, A.C. Cellulose: the structure slowly unravels. **Blackie Academic and Professional**, London, v. 4. p. 173-207, 1997.

PANKHURST, C.E.; MAGAREY, R.C.; STIRLING, G.R.; BLAIR, B.L.; BELL, M.J.; GARSIDE, A.L. Management practices to improve soil health and reduce the effects of detrimental soil biota associated with yield decline of sugarcane in Queensland, Australia. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 72, p. 125-137, 2003.

PATERSON, E.; OSLER, G.; DAWSON, L.A.; GEBBING, T.; SIM, A.; ORD, B. Labile and recalcitrant plant fractions are utilized by distinct microbial communities in soil: independent of the presence of roots and mycorrhizal fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, p.1103-1113, 2008.

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

PIMENTEL, D.; HEPPERLY, P.; HANSON, J.; DOUDS, D.; SEIDEL, R. Environmental, energetic, and economic comparisons of organic and conventional farming systems. **BioScience**, London, v. 55, n. 7, p. 573-582, 2005.

POLITANO, W.; PISSARRA, T.C.T. Avaliação por fotointerpretação das áreas de abrangência dos diferentes estados da erosão acelerada do solo em canaviais e pomares de citros. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 242-252, 2005.

PURCENA, L.L.A.; MEDEIROS, M.C.B.D.; LEANDRO, W.M.; FERNANDES, K.F. Effects of organic and conventional management of sugar cane crop on soil physicochemical characteristics and phosphomonoesterase activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 62, p. 1456-1463, 2014.

RAMOS, M.L.G.; MENEGHIN, M.F.S.; PEDROSO, C.; GUIMARÃES, C. M.; KONRAD, M.L.F. Efeito dos sistemas de manejo e plantio sobre a densidade de grupos funcionais de microrganismos, em solo de Cerrado. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 1, p. 58-68, jan/fev. 2012.

REJSEK, K.; VRANOVA, V.; PAVELKA, M.; FORMANEK, P. Acid phosphomonoesterase (E.C.3.1.3.2) location in soil. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, New York, v. 175, p. 196-211, 2012.

RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R.; GONZALEZ, T.; BASHAN, Y. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. **Plant and Soil**, Amsterdam, v. 287, p. 15-21, 2006.

ROSCOE, R.; MACHADO, P.L.O. Fracionamento físico do solo em estudos da matéria orgânica. **Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste**, Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002. 86p.

ROSCOE, R.; MERCANTE, F.M.; MENDES, I.C.; REIS-JÚNIOR, F.B.; SANTOS, J.C.F.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana do solo: fração mais ativa da matéria orgânica. In: ROSCOE, R.; MERCANTE, F.M.; SALTON, J.C. (Ed.). **Dinâmica da Matéria Orgânica do Solo em Sistemas Conservacionistas – Modelagem Matemática e Métodos Auxiliares**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. p. 163-200.

RUDORFF, B.F.T.; AGUIAR, D.A.; SILVA, W.F.; SUGAWARA, L.M.; ADAMI, M.; MOREIRA, M.A. Studies on the rapid expansion of sugarcane for ethanol production in São Paulo state (Brazil) using landsat data. **Remote Sensing**, Amsterdam, v. 2, p. 1057-1076, 2010.

SANNINO, F.; GIANFREDI, L. Pesticide influence on soil enzymatic activities. **Chemosphere**, Kidlington, v. 45, n. 4-5, p. 417-425, 2001.

SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA, V.A.; LUBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J.A.; CUNHA, T.J.F.; OLIVEIRA, J.B. (Ed.). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3. ed. rev. ampl. Brasília: Embrapa, 2013. 353p.

SANTOS, U.P.; TERRA-FILHO, M.; LIN, C.A.; PEREIRA, L.A.A.; VIEIRA, T.C.B.; SALDIVA, P.H.N.; BRAGA, A.L.F. Cardiac arrhythmia emergency room visits and environmental air pollution in São Paulo, Brazil. **Journal of Epidemiology and Community Health**, London, v. 62, p. 267-272, 2008.

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

SCHÄFFER, A. Pesticide effects on enzyme activities in the soil ecosystem. **Soil Biochemistry**, Oxford, v. 8, 1993, p. 273-340.

SCHIMEL, J.P.; WEINTRAUB, M.N. The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 549-563, 2003.

SILVA, J.E.; RESCK, D.V.S.; CORAZZA, E.J.; VIVALDI, L. Carbon storage in clayey Oxisol cultivated pastures in the Cerrado region, Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 103, p. 357-363, 2004.

SINGH, B.K.; WALKER, A.; WRIGHT, D.J. Degradation of pesticides in combination and their effect on soil microbial activity. Pesticide behaviour in soils and water. **Proceedings of a Symposium (British Crop Protection Council)**, 2001, p. 145-150.

SIX, J.; FREY, S.D.; THIET, K.R.; BATTEN, K.M. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, p. 555-569, 2006

SMEETS, E.; JUNGINGER, M.; FAAIJ, A.; WALTER, A.; DOLZAN, P.; TURKENBURG, W. The sustainability of Brazilian ethanol - An assessment of the possibilities of certified production. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 32, p. 781-813, 2008.

SOUZA, G.S.; LIMA, J.S.S.; SILVA, S.A.; OLIVEIRA, R.B. Variabilidade espacial de atributos químicos em um Argissolo sob Pastagem. **The Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 4, p. 589-596, 2008.

SPARLING, G.P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood: CSIRO Publishing, v. 30, p. 195-207, 1992.

SPARLING, G.P. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In: PANKHURST, C.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. (Ed.). **Biological indicators of soil health**. London: CAB International, 1997. p. 97-119.

SPAROVEK, G.; SCHNUG, E. Temporal erosion-induced soil degradation and yield loss. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1479-1486, 2001.

STATSOFT. Statistica for windows. 2.ed. Tulsa: StatSoft, 1995. (General conventions and statistics).

STEVENSON, F.J. **Cycles of soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, micronutrients**. New York: John Wiley and Sons, 1986. p. 231-284.

SWIFT, M.; BIGNELL, D. E. (Ed.). **Standard methods for the assessment of soil biodiversity and land-use-practice**. International Centre for Research in Agroforestry, South East Asian Regional Research Programme, ASB-Lecture Note 6B, Bogor, Indonesia, 2001. Disponível em:

<<http://www.worldagroforestrycentre.org/SEA/Publications>>. Acesso em: 12 jan. 2013

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: WEAVER, R.W.; SCOTT, A.; BOTTOMELEY, P.S.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. (Ed.). Methods of soil analysis. Madison: Soil Science Society of America, 1994. Pt. 2: **Microbiological and biochemical properties**. p. 778-833.

TADANO, T.; OZAWA, K.; SAKAI, H.; OSAKI, M.; MATSUI, H. Secretion of phosphatase by the roots of crop plants under phosphorus-deficient conditions and some properties of the enzyme secreted by lupin roots. **Plant and Soil**, Amsterdam, v. 155-156, n. 1, p. 95-98, 1993.

TAKETANI, R.G.; TSAI, S.M. The influence of different land uses on the structure of archaeal communities in amazonian anthrosols based on 16S rRNA and amoA genes. **Microbial Ecology**, New York. v.59, n. 4, p. 734-743, 2010.

TATE, K.R.; ROSS, D.J.; RAMSAY, A.J.; WHALE, K.N. Microbial biomass and bacteria in two pasture soils: An assessment of measurement procedures, temporal variations, and the influence of P fertility status. **Plant and Soil**, Amsterdam, v. 132, n. 2, p. 233-241, 1991.

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

TIEMANN, L.K.; BILLINGS, S.A. Changes in variability of soil moisture alter microbial community C and N resource use. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 43, p. 1837-1847, 2011.

TORMENA, C.A.; FRIEDRICH, R.; PINTRO, J.C.; COSTA, A.C.S.; FIDALSKI, J. Propriedades físicas e taxa de estratificação de carbono orgânico num Latossolo Vermelho após dez anos sob dois sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, n. 6, p. 1023-1031, 2004.

TORSVIK, V.; OVREAS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, London, v. 5, n. 3, p. 240-245, 2002.

UNICA (São Paulo) (Org.). **USINA VIRTUAL**: Conheça o processo produtivo da cana-de-açúcar. 2014. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/documentos/interatividade/>>. Acesso em: 17 fev. 2014.

VAN BRUGGEN, A H.C.; SEMENOV, A.M. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam. v. 15, n. 1, p. 13-24, 2000.

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

VANCE, E.D.; CHAPIN III, F.S. Substrate limitations to microbial activity in taiga forest floors. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 173-188, 2001.

VARGAS, L. K.; SCHOLLES, D. Nitrogênio da biomassa microbiana, em solo sob diferentes sistemas de manejo, estimado por métodos de fumigação. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 22, p. 411-417, 1998.

VASCONCELLOS, C.A.; CAMPOLINA, D.C. A.; SANTOS, F.G. Resposta da soja e da biomassa de carbono do solo aos resíduos de cinco genótipos de sorgo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, p. 67-77, 1999.

VOLPE, E.; MARCHETTI, M.E.; MACEDO, M.C.M.; ROSA-JUNIOR, E.J. Renovação de pastagem degradada com calagem, adubação e leguminosa consorciada em Neossolo Quartzarênico. **The Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 131-138, 2008.

WARDLE, D.A.; HUNGRIA, M.A. A biomassa microbiana do solo e sua importância nos ecossistemas terrestres. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p.193-216.

YANG, K.; METCALF, W.W. A new activity for an old enzyme: *Escherichia coli* bacterial alkaline phosphatase is a phosphite dependent hydrogenase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 101, n. 21, p. 7919-7924, 2004

ZINN, Y.L.; LAL, R.; RESCK, D.V.S. Changes in soil organic carbon stocks under agriculture in Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam v. 84, p. 28–40, 2005.