

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA AGRÍCOLA

**ATIVIDADE E DIVERSIDADE DA BIOMASSA MICROBIANA
EM DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO DO SOLO E DE
CULTURAS NO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ**

OSVALDINO BRANDÃO JUNIOR

CAMPINAS
FEVEREIRO DE 2005

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA AGRÍCOLA

**ATIVIDADE E DIVERSIDADE DA BIOMASSA MICROBIANA
EM DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO DO SOLO E DE
CULTURAS NO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ**

Tese de Doutorado submetida à
banca examinadora para obtenção do
título de Doutor em Engenharia
Agrícola na área de concentração em
Água e Solo.

OSVALDINO BRANDÃO JUNIOR

Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto Espindola

CAMPINAS
FEVEREIRO DE 2005

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

B733a Brandão Junior, Osvaldino
Atividade e diversidade da biomassa microbiana em diferentes sistemas de manejo do solo e de culturas no norte do estado do Paraná / Osvaldino Brandão Junior .-- Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientador: Carlos Roberto Espindola.
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola.

1. Fumigação. 2. Extração (Química). 3. Plantio direto. 4. Solos - Manejo. 5. Biologia do solo. I. Espindola, Carlos Roberto. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Agrícola. III. Título.

Titulo em Inglês: Activity and diversity of microbial biomass under different soil and crop management systems in the north of the state of Paraná (Brazil).

Palavras-chave em Inglês: Fumigation-incubation, Fumigation-extraction, No-tillage system, conventional tillage system, microbial biomass

Área de concentração: Água e solo.

Titulação: Doutor em Engenharia Agrícola

Banca examinadora: Mariangela Hungria, Isabela Clerici de Maria, Luiz Lonardoní Foloni, Mara de Andrade Marinho Weill

Data da defesa: 25/02/2005

DEDICATÓRIA

A **Deus**, em cuja fé tudo é possível.

Às minhas **santas** e **santos** protetores.

Aos meus queridos pais, **Rosa Maria** e **Osvaldino**, pelo amor, carinho e dedicação integrais. Exemplos de vida e de profissionalismo. Por todas as alegrias e facilidades que sempre me proporcionaram para que pudesse alcançar meus objetivos e cumprir minhas metas, sem nunca medirem esforços.

Aos meus amados irmãos, **Lucinda**, **Christian** e **Analú**, pelo amor, amizade e eternas ajudas em todos os momentos de necessidades. Pelos seus exemplos como pessoas íntegras e profissionais competentes.

Ao meu saudoso avô **Salvador**, pelo exemplo de vida e carinho nunca esquecidos.

À eterna memória de minha avó materna **Lucinda**, e de meus avós paternos **Maria Dominga** e **Osvaldo**.

**A todos vocês que fazem e fizeram
parte de minha vida, dedico com
todo amor este trabalho.**

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Engenharia Agrícola (Feagri) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), pela oportunidade da realização deste curso de doutorado.

Ao professor Dr. Carlos Roberto Espindola, por sua atenção e generosidade em aceitar-me e orientar-me na realização dessa pesquisa.

À Dra. Mariangela Hungria, por sua amizade, profissionalismo, apoio pessoal e compreensão em mais de doze anos de orientação.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa Agropecuária (Embrapa soja), pela oportunidade da realização de meus trabalhos de pesquisa.

Ao Dr. Eleno Torres, por permitir o uso do campo experimental.

Ao Dr. Júlio César Franchini dos Santos, por seu profissionalismo, apoio e orientação em toda a condução da fase experimental.

A todos os professores, com os quais tive o prazer de aprender e compartilhar momentos de amizade durante minhas aulas na Feagri. Em especial ao professor Boni (*in memoriam*).

À pesquisadora Maria Cristina Neves de Oliveira e à assistente de operações 1 Tania Tieko Tuda Fagundes, do Departamento de Biometria da Embrapa soja, pela orientação e realização da análise estatística nos resultados dessa pesquisa.

Aos funcionários do Laboratório de Biotecnologia do solo: Ligia, por seu exemplo de vida; Leny pela alegria e bom humor; Rinaldo pelos “quebra-galhos”. Agradeço pelas ajudas e amizade durante todos os anos de Embrapa.

À querida Evelin pelo carinho, paciência e compreensão.

Ao amigo Manezinho, por seu companheirismo, apoio e sorriso sempre presentes.

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia da Embrapa soja: Alda, Anízia, Benato, Mauro Caetano e Sérgio, pelo apoio nas atividades ali desenvolvidas e pelo companheirismo.

À afilhada e amiga Magda, à querida amiga Luciana e ao grande amigo Ulisses, pela ajuda nos trabalhos e amizade em todos os momentos.

Aos queridos afilhados Glaciela e Odair, aos amigos Samuca e Fernando, companheiros da Faculdade de Lages, pela ajuda nas pesquisas desenvolvidas e amizade durante o tempo de convívio em Londrina e que permanece até hoje.

Aos funcionários do Laboratório de Solos: Fabinho, Waldemar, Moisés e Rodrigo, pelas análises realizadas e pelo agradável convívio durante todos esses anos.

À querida Tatiana pela amizade e fé em Deus.

À querida amiga Rosinei pelos momentos de psicologia, apoio em todas as etapas de meu trabalho, pelo carinho e incondicional companheirismo.

À querida amiga Maria pelo apoio nos momentos difíceis, pelos lanches da tarde e amizade sincera.

Aos funcionários e companheiros do laboratório de Física do Solo da Embrapa soja: Donizete, Mara e Gustavo, pelas ajudas prestadas.

Ao amigo Georginho pelo apoio nas etapas iniciais de meus trabalhos no Doutorado e pela grande amizade até os dias de hoje.

Ao afilhado Lucianinho e à amiga Carla pelas preciosas ajudas durante suas permanências na Embrapa soja e pela eterna amizade.

Ao grande amigo Jorge e sua esposa Bia pela amizade desde a época do Mestrado, hospedagem e companheirismo durante o Doutorado e por todos os dias de convivência.

A todos os colegas da Feagri, com os quais convivi durante bom tempo em Campinas e que mesmo à distância não esqueci e deixei de gostar. Entre eles: Camila, Marcia, Rojane, Lucia, Andréia, Juliana, Sara, Daniela, Hernani, Junior, Lucarelli... Meu muito obrigado!

Aos amigos da biblioteca da Embrapa soja: Sônia, Ivania e Ademirzinho pela ajuda nas buscas de referências para a realização de minhas pesquisas.

Aos grandes amigos Fernanda, Juninho, Everson, Plotegher e Édão por todos os agradáveis momentos de convívio e companheirismo.

Às amigas estagiárias Letícia, Thaís, Ana Luiza, Fabiana, Sheila e Josiane pelo carinho e amizade.

À estagiária e amiga Suelen, pelas sessões de terapia, correções e buscas das referências bibliográficas.

Aos amigos Lilian, Marisa, Pâmela, Fabiana, Fernando, Ednéia, Fábio, Luquinha, Alan pelo agradável companheirismo.

À querida professora Dra. Halha O. Saridakis por seu profissionalismo, apoio e carinho desde meus tempos de Mestrado.

Ao amigo e pesquisador Dr. George G. Brown, por seu profissionalismo, constante apoio e amizade.

À professora Maria de Fátima pelo bom humor, companheirismo e atenção.

Às queridas amigas Denimar e Patrícia, por sua atenção, carinho, apoio e amizade.

À irmã Catarina, por seu apoio em momentos difíceis, sabedoria, ensinamento e dedicação em tão pouco tempo de convivência.

Às queridas secretárias da Feagri Aninha e Marta, pela ajuda nos momentos de dificuldade.

À afilhada Liliane e ao querido amigo Wilson, pela grande amizade e confiança.

Ao afilhado Ginez, pela presteza em ajudar nos momentos difíceis, pelo companheirismo e bom humor.

À Pró-Reitoria da Unicamp, pela bolsa de estudos emergencial no primeiro ano de curso.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pela concessão bolsa de estudos durante três anos.

A todos que de uma maneira direta ou indireta ajudaram na realização dessa pesquisa.

Meu muito obrigado!!!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Introdução	2
1.2. Objetivos	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Microrganismos do solo	5
2.1.1. Bactérias	5
2.1.2. Actinomicetos	6
2.1.3. Fungos	7
2.1.4. Algas	9
2.1.5. Protozoários	9
2.1.6. Vírus	10
2.1.7. População de bactérias, fungos e actinomicetos cultiváveis	10
2.2. Relação solo x microrganismos	12
2.3. Biomassa microbiana	16
2.4. Respiração microbiana do solo	20
2.5. Parâmetros físicos do solo	21
2.5.1. Agregados	21
2.5.2. Densidade do solo	22
2.5.3. Densidade de partículas	22
2.5.4. Porosidade	23
2.6. Parâmetros químicos do solo	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. Caracterização do local de coleta do material (solo)	26
3.2. Coleta das amostras	29
3.3. Secagem em estufa	30

3.4. Cálculo para determinação de umidade das amostras antes da incubação ..	30
3.5. Cálculo para determinação da umidade desejada das amostras	30
3.6. Cálculos para correção de umidade das amostras para incubação	30
3.7. Fumigação-incubação	32
3.7.1. Preparo das amostras	32
3.7.2. Amostras fumigadas	32
3.7.3. Amostras não fumigadas	33
3.7.4. Amostras recebendo sacarose	33
3.7.5. Determinação de C-CO ₂ por titulação após desincubação das amostras	34
3.7.6. Cálculo do C-CO ₂ liberado	35
3.8. Método da fumigação-extração	36
3.8.1. Amostras fumigadas	36
3.8.2. Amostras não fumigadas	37
3.8.3. Determinação de carbono da biomassa microbiana extraído pelo método da fumigação-extração	37
3.8.4. Determinação do nitrogênio da biomassa microbiana extraído pelo método da fumigação-extração	38
3.8.5. Cálculo do C da biomassa microbiana pelo método da fumigação-extração	40
3.8.6. Cálculo do N da biomassa microbiana pelo método da fumigação-extração	41
3.9. Correção da umidade após incubação	41
3.10. Análises Estatísticas	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5. CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Croqui da área experimental	28
FIGURA 2 - Esquema simplificado do sistema analítico para determinação da biomassa microbiana do solo	29
FIGURA 3 - Esquema simplificado para determinar a correção da umidade das amostras analisadas	31
FIGURA 4 - Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas coletas 1, 2 e 3	45
FIGURA 5 - Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas coletas 4, 5 e 6	46
FIGURA 6 - Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante)	47
FIGURA 7 - Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante)	48
FIGURA 8 - Valores médios de nitrogênio microbiano (mg N/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas coletas 1, 2 e 3	50
FIGURA 9 - Valores médios de nitrogênio microbiano (mg N/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas coletas 4, 5 e 6 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante).....	51

FIGURA 10 -	Valores médios de nitrogênio microbiano (mg N/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	52
FIGURA 11 -	Valores médios de nitrogênio microbiano (mg N/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	53
FIGURA 12 -	Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 1, 2 e 3 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	55
FIGURA 13 -	Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 4, 5 e 6	56
FIGURA 14 -	Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	57
FIGURA 15 -	Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	58
FIGURA 16 -	Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), induzida pelo açúcar e obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 1, 2 e 3	60
FIGURA 17 -	Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), induzida pelo açúcar e obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 4, 5 e 6 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	61

FIGURA 18 -	Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), induzida pelo açúcar e obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	62
FIGURA 19 -	Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), induzida pelo açúcar e obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	63
FIGURA 20 -	Valores médios de respiração basal (mg C-CO ₂ .10 dias ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 1, 2 e 3 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	64
FIGURA 21 -	Valores médios de respiração basal (mg C-CO ₂ .10 dias ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 4, 5 e 6.....	65
FIGURA 22 -	Valores médios de respiração basal (mg C-CO ₂ .10 dias ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).....	67
FIGURA 23 -	Valores médios de respiração basal (mg C-CO ₂ .10 dias ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).....	68
FIGURA 24 -	Valores médios de quociente metabólico (mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 1, 2 e 3	70
FIGURA 25 -	Valores médios de quociente metabólico (mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 4, 5 e 6	71

FIGURA 26 -	Valores médios de quociente metabólico (mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	73
FIGURA 27 -	Valores médios de quociente metabólico (mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	73
FIGURA 28 -	Valores médios de quociente metabólico induzido (mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 1, 2 e 3 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	75
FIGURA 29 -	Valores médios de quociente metabólico induzido (mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 4, 5 e 6 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	76
FIGURA 30 -	Valores médios de quociente metabólico induzido (mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	77
FIGURA 31-	Valores médios de quociente metabólico induzido (mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa)	77

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 - Carbono da biomassa microbiana - valores médios de seis coletas (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração	44
TABELA 2 - Nitrogênio microbiano - valores médios de seis coletas (mg N/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração	49
TABELA 3 - Carbono da biomassa microbiana - valores médios de seis coletas (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-incubação	54
TABELA 4 - Carbono da biomassa microbiana - valores médios de seis coletas (mg C/kg de solo seco), induzida pelo açúcar e obtidos pelo método da fumigação-incubação	59
TABELA 5 - Respiração basal - valores médios de seis coletas (mg C-CO ₂ .10 dias ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação	64
TABELA 6 - Quociente metabólico (q) - valores médios de seis coletas (mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação	69
TABELA 7 - Quociente metabólico induzido (qi) - valores médios de seis coletas (mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação	74

Resumo

RESUMO

Os teores de carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM), a respiração basal e o quociente metabólico (qCO_2) da microbiota do solo foram avaliados em um LATOSSOLO VERMELHO Distroférrico da Região Norte do Estado do Paraná, sob diferentes sistemas de manejo de solo e das culturas. A área experimental foi instalada em 1988/1989, na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, em Londrina, e é constituída de parcelas de mesmo tamanho (7,5m x 30,0m), que se diferenciam pelos diferentes sistemas de manejo do solo e das culturas; o delineamento experimental do ensaio foi em blocos ao acaso com quatro repetições. As coletas do solo, da camada de 0-10 cm, entre linhas de plantas, foram realizadas sempre pela manhã e o material foi coletado das parcelas sob três sistemas de manejo do solo, plantio direto (PD), preparo com cruzador (C) e plantio convencional (PC), sendo que todas as parcelas possuíam os seguintes sistemas de manejo das culturas: rotação (R - tremoço - *Lupinus albus*/milho - *Zea mays*/aveia preta - *Avena strigosa*/soja- *Glycine max*/trigo - *Triticum aestivum*/soja/trigo/soja) e sucessão (S - soja/trigo); desse modo, foram coletadas amostras de solo de seis tratamentos: PD (R e S), PC (R e S) e C (R e S). As amostras foram submetidas à análise da biomassa microbiana do solo pelos métodos de fumigação-incubação e fumigação-extração e os dados submetidos à análise de variância com o teste de Tukey ($p < 0.05$). Pode-se concluir que, em relação aos teores CBM e NBM avaliados pelo método de fumigação-extração, os maiores valores foram obtidos sob PD, seguidos do sistema de manejo com cruzador e pelo PC; resultados semelhantes foram obtidos pelo método de fumigação-incubação. Em relação aos resultados da respiração basal, os valores encontrados seguiram a seguinte ordem: PD > PC > C. Os qCO_2 com e sem a indução por açúcar apresentaram comportamentos semelhantes, sendo que o sistema de PC apresentou maiores valores do que o sistema de PD e com cruzador. O menor qCO_2 no PD indica a maior eficiência da microbiota do solo, implicando menor perda de carbono do solo e, conseqüentemente, maior acúmulo de carbono na matéria orgânica ao longo do tempo, nesse sistema. Não houve diferença estatística relacionada aos diferentes sistemas de manejo das culturas (R e S).

Palavras-chave: fumigação-extração; fumigação-incubação; plantio direto; plantio convencional; microbiota edáfica.

Abstract

ABSTRACT

The microbial biomass carbon (MB-C) and nitrogen (MB-N), basal respiration and metabolic quotient (qCO_2) were evaluated in a Rhodic Eutrudox of the North Region of the State of Paraná under different soil and crop management systems. The experimental area was established in 1988/1989 at the experimental station of Embrapa Soja, Londrina, Paraná, and consisted of 7.5m X 30.0m plots under different soil and crop managements; the experimental design was in completely randomized blocks with four replicates. Soil samplings of the 0-10 cm superficial layer, between plant lines were always realized in the morning, from plots under three soil managements, no-tillage (NT), field cultivator (C) and conventional tillage (CT) each with either a crop rotation (R) (lupin - *Lupinus albus*/maize - *Zea mays*/black oat - *Avena strigosa*/soybean - *Glycine max*/wheat - *Triticum aestivum*/soybean/wheat/soybean) or crop sequence (S - soybean/wheat); therefore samples were taken from six treatments: NT (R and S), C (R and S) and CT (R and S). Soil samples were analyzed for microbial biomass using two methods, fumigation-incubation and fumigation-extraction and the data were submitted to the analysis of variance and the Tukey test ($p < 0.05$). In relation to the MBC and MBN evaluated by the fumigation-extraction method, the higher values were obtained with the NT followed by the management with the field cultivator and the CT; similar results were obtained with the fumigation-incubation method. In relation to the basal respiration, the values obtained followed the order NT > CT > M. The qCO_2 with and without sugar induction were higher under CT, followed by the NT and the M managements. The lower qCO_2 under NT indicates higher efficiency of the soil microbes, as well as lower losses of soil carbon resulting in higher accumulation of carbon in the soil organic matter with time. No statistical differences were observed related to the different crop systems.

Index-terms: fumigation-incubation; fumigation-extraction; no-tillage system; conventional tillage system; edaphic microbial.

1 Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1. Introdução

O solo é composto por cinco principais componentes fundamentais: matéria mineral, água, ar, matéria orgânica e organismos vivos. A quantidade destes constituintes, porém, é variável para cada solo. A porção viva, incluindo pequenos animais e microrganismos, compreende menos de 1% do volume; total, contudo, é indubitavelmente indispensável para a produção das culturas e para sua fertilidade (ALEXANDER, 1977).

O arranjo das partículas (e o espaço poroso resultante) evidencia a presença de agregados com formas e tamanhos variáveis, que constituem as unidades básicas da estrutura do solo. Funcionalmente, uma boa estrutura é aquela com a presença de agregados estáveis, com diâmetros entre 1 e 10mm, e com grande quantidade de poros com mais de 75µm de diâmetro, para assegurar um meio aeróbio, além de poros com diâmetros entre 0,2 e 30µm, em número suficiente para reterem e disponibilizarem água ao crescimento microbiano e das plantas.

Relativamente pouco se conhece sobre a ação dos microrganismos na agregação do solo, mas há evidências crescentes sobre seu importante papel no processo. Eles exercem uma ação física na adesão das partículas do solo, atuando como ligantes físicos, e produzem agentes colantes ou cimentantes (polissacarídeos de alta viscosidade), como resultado de sua ação heterotrófica sobre a decomposição da matéria orgânica (SIQUEIRA, 1988). Este autor menciona ainda que os efeitos benéficos dos microrganismos sobre a agregação do solo decrescem na seguinte ordem: fungos > actinomicetos > bactérias produtoras de polissacarídeos extracelulares > leveduras > maioria das bactérias.

A capacidade de crescer em um determinado habitat é determinada pela habilidade dos organismos em utilizarem os nutrientes ao seu redor. Ao mesmo tempo, os organismos vivem em um ambiente complexo, e suas características nutricionais e fisiológicas irão

determinar, em grande extensão, a sua capacidade de sobrevivência e crescimento com seus vizinhos. Conseqüentemente, não somente a função, mas a real existência das espécies no habitat edáfico, é condicionada por suas versatilidades nutricionais e bioquímicas (ALEXANDER, 1977), afetando a qualidade do solo e sofrendo as ações de diferentes práticas de manejo, que, por hipótese, devem afetar de maneira diversa a atividade e a diversidade da biomassa microbiana.

1.2. Objetivo

Avaliar os teores de carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, a respiração basal e o quociente metabólico em diferentes sistemas de manejo do solo e das culturas em um LATOSSOLO VERMELHO Distroférrico no Norte do Estado do Paraná e verificar se essas práticas afetam a atividade da microbiota do solo.

2 Revisão Bibliográfica

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Microrganismos do solo

Os microrganismos são classificados em quatro grupos distintos: bactérias, fungos, algas e protozoários. Os vírus, também encontrados no solo, não são considerados neste esquema, que se baseia na organização celular (BRANDÃO, 1992).

Segundo WHITMAN et al. (1998), os microorganismos representam a forma de vida mais abundante e diversificada do planeta. Atualmente tem sido estimado que um grama de solo pode conter mais de 10.000 genomas diferentes (TORSVIK et al., 1998).

A organização e funcionamento dessas comunidades é que governam as transformações bioquímicas que ocorrem no ecossistema solo. A microbiota do solo é responsável não somente pela formação do húmus e ciclagem de nutrientes, mas pela definição da estrutura física e muitas outras funções (LYNCH e BRAGG, 1985).

KENNEDY e SMITH (1995) definem a biodiversidade como abundância de vida, indicada pela variedade da biota e inter-parentesco de processos bioquímicos no solo. Segundo esses autores, o estudo da diversidade microbiológica dos solos pode aumentar nosso conhecimento dos recursos genéticos disponíveis e sua distribuição sobre a Terra e também sobre o papel funcional desta diversidade.

2.1.1. Bactérias

As bactérias são, normalmente, de ocorrência proeminente, sendo, usualmente, o grupo mais numeroso do que os outros quatro combinados (ALEXANDER, 1977). São microrganismos procariontes e, na maior parte, heterotróficos nos solos. Em sendo o grupo mais numeroso, constituem cerca de 25 a 30% da biomassa microbiana total dos solos

agrícolas. Estão envolvidas em processos importantes, como a fixação biológica de N_2 , nitrificação, denitrificação, decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e produção de substâncias promotoras de crescimento, dentre outros (PAUL e CLARK, 1989; SIQUEIRA e FRANCO, 1988).

Elas apresentam tamanho reduzido (cerca de $0,5-1,0\mu m \times 1,0-2,0\mu m$) e as células individuais podem apresentar-se, basicamente, de três formas: células esféricas ou elípticas (cocos), cilíndricas ou em bastonetes e espiraladas ou helicoidais (BRANDÃO, 1992). Estima-se que existam, no solo, mais de 800 espécies de bactérias.

2.1.2. Actinomicetos

Representam um grupo bastante heterogêneo de microrganismos, com características mistas de fungos e bactérias. No solo, eles se apresentam em forma filamentosa, com hifas finas ($0,5-1,2\mu m$ de diâmetro). A presença de actinomicetos no solo pode ser detectada pela produção de substâncias voláteis, com cheiro rançoso característico, denominadas “geosmin”, que emanam de solos recém-arados. São mais abundantes em solos secos e quentes, e raramente em solos turfosos e encharcados (SIQUEIRA, 1988).

Os actinomicetos são numerosos e largamente distribuídos, não apenas no solo, mas em vários outros habitats. Eles estão presentes na superfície do solo e também nos horizontes profundos. Em abundância, constituem o segundo grupo de microrganismos do solo (ALEXANDER, 1977). Apresentam produção de micélio e esporos assexuais (conídios) assemelhando-se, por isso, aos fungos e às bactérias Gram negativas, por serem procariontes, apresentarem sensibilidade aos vírus e produzirem antibióticos (SIQUEIRA e FRANCO, 1988). No solo, em relação a outras populações bacterianas, são numericamente inferiores, sendo, entretanto, mais numerosos que as populações de fungos. Normalmente, 10 a 50% da comunidade microbiana do solo é constituída por populações destes microrganismos (ALEXANDER, 1977).

Os actinomicetos participam de processos importantes como a degradação de substâncias que normalmente não são decompostas por fungos e bactérias, como fenóis, quitina, húmus e parafina, e decomposição da matéria orgânica em temperaturas mais altas. Atuam ainda no equilíbrio microbiológico do solo mediante produção de antibióticos, além da fixação biológica de nitrogênio atmosférico a partir do estabelecimento da simbiose com espécies de angiospermas, a maioria de porte arbustivo e arbóreo, sendo os gêneros mais estudados, *Alnus*, *Casuarina* e *Myrica* (SIQUEIRA e FRANCO, 1988). São microrganismos heterotróficos, podendo ser encontrados em muitos habitats, sendo, portanto, diretamente influenciados pela disponibilidade de substratos oxidáveis, o que os torna, em geral, mais abundantes em solos ricos em matéria orgânica. A combinação de fatores tais como teor de matéria orgânica, pH, umidade e temperatura influencia o tamanho da comunidade, sua atividade bioquímica e os gêneros e espécies de actinomicetos encontrados nos solos (ALEXANDER, 1977). Mais de vinte gêneros já foram isolados dos solos, sendo *Streptomyces*, *Nocardia* e *Micromonospora* os mais comuns (WILLIAMS e WELLINGTON, 1982). Tipicamente, o gênero *Streptomyces* é dominante no solo, representando 70 a 90% das colônias desenvolvidas em meio de cultura sólido (PAUL e CLARK, 1989).

2.1.3. Fungos

Os fungos são classificados como protistas superiores, pois são constituídos por células eucarióticas (CARDOSO, 1978). Podem ser unicelulares, como as leveduras, ou pluricelulares, ditos fungos filamentosos. Os fungos possuem formações denominadas hifas, que são filamentos tubulares ramificados com cerca de 3-10µm de diâmetro. O conjunto de hifas ramificadas, que dá um aspecto de algodão ao organismo, é denominado micélio (BRANDÃO, 1992).

Na maioria dos solos cultivados, bem aerados, os fungos responsabilizam-se por uma grande parte do total do protoplasma microbiano. Apesar de o índice de procedimentos usados com outros grupos microbianos tender a sugerir que os fungos não são um dos principais habitantes do solo, eles constituem, de fato, uma composição significativa na biomassa, por causa do expressivo diâmetro e da extensa malha de seus filamentos (ALEXANDER, 1977). Desse modo, embora não sejam predominantes em termos numéricos, representam de 70 a 80% da biomassa microbiana do solo e, ao contrário da população bacteriana e de actinomicetos, os fungos são microrganismos eucariotos (SIQUEIRA e FRANCO, 1988). Predominam em solos ricos em matéria orgânica, com pH na faixa ácida e umidade próxima da capacidade de campo (SIQUEIRA, 1988).

Como os actinomicetos, os fungos também são heterotróficos em sua nutrição, tendo, conseqüentemente, a distribuição de sua população determinada pela disponibilidade de substratos orgânicos oxidáveis (ALEXANDER, 1977; PAUL e CLARK, 1989). Os principais fatores externos que mais influenciam a comunidade fúngica incluem o teor de matéria orgânica, pH, uso de fertilizantes orgânicos ou inorgânicos, umidade do solo, aeração, temperatura, estação do ano e tipo de vegetação (ALEXANDER, 1977).

A umidade ideal para o desenvolvimento desses organismos está localizada entre 60-70% da capacidade de retenção de água de um solo. Em geral, os fungos são aeróbios, porém, apresentam resistência a altas pressões de CO₂, podendo se desenvolver em regiões mais profundas do solo. Quanto à temperatura, podem ser encontrados em uma ampla faixa; entretanto, no solo, predominam espécies mesófilas (BRANDÃO, 1992).

Uma das principais funções desempenhadas pela população fúngica nos solos é a sua atividade heterotrófica sobre o material orgânico, o que torna os fungos agentes de controle biológico de outros fungos e nematóides fitopatogênicos, além de realizarem relações simbióticas mutualísticas (micorrizas) e parasíticas (doenças) importantes com as raízes da maioria das plantas (SIQUEIRA e FRANCO, 1988).

2.1.4. Algas

As algas ocorrem em maior número na superfície do solo (0-5cm), podendo também ser encontradas nos horizontes mais profundos. Elas contribuem para a formação e para certa “integridade” dos solos, por serem os primeiros organismos colonizadores dos substratos expostos recentemente à biosfera. As primeiras contribuições decorrentes da presença de uma população de algas em um solo são: incorporação de carbono (produção de matéria orgânica), pela fotossíntese e pela estabilização dos agregados (BRANDÃO, 1992).

São os principais microrganismos fotossintetizantes que vivem nos solos, predominando naqueles com elevada luminosidade, com alto teor de umidade e com baixa acidez. As algas são consideradas incorporadoras de matéria orgânica no solo, pois convertem água + nutrientes + luz em biomassa (SIQUEIRA, 1988).

2.1.5. Protozoários

Os protozoários são protistas superiores, unicelulares, cujo tamanho pode variar de alguns micrômetros até um ou mais centímetros. Acredita-se que os protozoários representam um fator importante no controle do tamanho das populações bacterianas no solo. As populações de protozoários, tanto saprofíticos como predadores, são maiores na superfície, uma vez que é nessa faixa que se encontram os maiores teores de matéria orgânica, condição necessária para que ocorram maiores populações bacterianas (BRANDÃO, 1992).

A investigação de solos cultivados e virgens de todos os continentes interagindo com as diversas práticas de manejo tem revelado a presença de uma fauna protozoária rica e heterogênea. As populações podem ser tão abundantes quanto 100.000 a 300.000 células

por grama, embora valores entre 10.000 a 100.000 sejam mais típicos (ALEXANDER, 1977).

2.1.6. Vírus

Os vírus são partículas infecciosas submicroscópicas constituídas de uma molécula de ácido nucléico (DNA ou RNA) circundado por uma capa protéica denominada capsídeo. O capsídeo apresenta subunidades protéicas, os capsômeros, responsáveis pela especificidade viral (BRANDÃO, 1992).

De potencial importância é a capacidade de resíduos orgânicos, húmus e argila adsorverem vírus. A real importância dos vírus no solo, porém, ainda é difícil de ser avaliada (ALEXANDER, 1977).

2.1.7. População de bactérias, fungos e actinomicetos cultiváveis

A densidade e composição da flora bacteriana são altamente influenciadas pela combinação de fatores ambientais, como umidade, aeração, temperatura, teor de matéria orgânica do solo, acidez e suprimento de nutrientes (ALEXANDER, 1977).

A técnica de isolamento e contagem em placas pelo método de diluição em série é amplamente empregada para estimar a população de microrganismos do solo. Apresenta como princípios básicos a dispersão da amostra de solo e a distribuição de uma alíquota em um meio de cultura apropriado, incubação sob condições adequadas e contagem das colônias desenvolvidas (WOLLUM II, 1982). Entretanto, este método é considerado extremamente limitado por detectar apenas uma pequena proporção dos microrganismos, ou seja, aqueles capazes de se desenvolverem em meios de cultura seletivos para cada grupo (PAUL e CLARK, 1989). Apesar de cuidados de padronização na agitação e dispersão do solo durante o processo de diluição, pode ocorrer, durante estas operações, por

exemplo, a fragmentação de hifas, as quais, em ambientes onde exista uma alta população de microrganismos que apresentem crescimento micelial, ocasionam a superestimação da população, uma vez que serão contadas como colônias simples (LORCH et al., 1995). Por esta razão, este método tem se mostrado muitas vezes inadequado ao isolamento e enumeração da população fúngica do solo, podendo, no entanto, ser utilizado no estudo de fatores ambientais sobre a população microbiana.

De modo geral, para o isolamento de grandes grupos de microrganismos do solo usam-se meios ricos em nutrientes e com inibidores seletivos. Para o isolamento e crescimento de actinomicetos, deve se ter um meio especial em que o uso de antibióticos para fungos (como ciclohexamida, micostatin, dentre outros) e para bactérias (como a estreptomicina) é recomendado.

Geralmente, os actinomicetos apresentam desenvolvimento mais lento, de aproximadamente 10 a 14 dias de incubação à temperatura de 25 a 30°C, formando colônias pequenas, arredondadas e tenáceas, apresentando micélio aéreo. Os neutrófilos (pH 6,5-7,0) são os mais representativos deste grupo. Para o isolamento de bactérias e fungos presentes no solo têm se utilizado meios ricos em fontes de carbono, como glicose, e proteínas, como peptona. O desenvolvimento das colônias bacterianas é muito rápido, ocorrendo, aproximadamente, em 3 dias, à temperatura de 30°C. Para estudos da população fúngica é recomendado o uso de antibióticos, como a estreptomicina ou a penicilina, para evitar o rápido crescimento bacteriano (WOLLUM II, 1982; LORCH et al., 1995).

Alguns trabalhos têm sido realizados para estudar os efeitos de diferentes sistemas de cultivo e do uso de adubação química e orgânica sobre a população de bactérias, fungos, actinomicetos, solubilizadores e celulolíticos cultiváveis, pelo método da diluição em série da amostra, seguido da inoculação em meios específicos e do isolamento e contagem em placas das unidades formadoras de colônias (CATTELAN e VIDOR, 1990a, b; NUERNBERG et al., 1984; SILVA FILHO e VIDOR, 1984), estando sujeitos às limitações do método.

2.2. Relação solo x microrganismos

Nos estudos de microbiologia do solo é essencial considerar, cuidadosamente, a natureza do ambiente no qual se encontram os microrganismos. As forças que atuam na dinâmica das populações do solo e os efeitos dessas populações em seu ambiente são controlados, em grau elevado, pelas propriedades físicas e químicas do solo (ALEXANDER, 1977).

A fração biológica é um dos principais componentes do solo. Essa fração é composta por comunidades de pequenos animais (mesofauna) e microrganismos (microfauna e microflora). Muitas das propriedades dos solos são decorrentes da atividade biológica, sendo comum dizer-se que um solo sem atividade biológica é um solo sem vida. As relações e interações entre as diferentes comunidades de organismos do solo contribuem para a manutenção da sua vida e para diversos outros processos que, por sua vez, estão intimamente ligados à cadeia trófica (ARAÚJO e HUNGRIA, 1994).

A porção inorgânica do solo, por causa de sua influência na disponibilidade nutricional, aeração e retenção de água, tem um efeito marcante na população microbiana (ALEXANDER, 1977).

A atividade e o montante populacional dos microrganismos no solo estão diretamente relacionados com o volume de material orgânico disponível, que constitui uma das principais fontes de energia para esses organismos (CALEGARI, 1998).

Em ambientes naturais ocorrem interações de espécies microbianas individuais e de células individuais. As inter-relações e interações dos vários grupos microbianos que compõem a comunidade do solo, entretanto, estão em contínuo estado de mudança, e este estado dinâmico é preservado junto a um nível característico da flora. Conseqüentemente, a composição da flora de qualquer habitat é governada pelo equilíbrio biológico criado pelas associações e interações de todos os indivíduos encontrados na comunidade. Mudanças ambientais perturbam, temporariamente, o equilíbrio, mas este é restabelecido,

possivelmente, de forma modificada, como uma mudança da comunidade, para tornar-se adaptada às novas circunstâncias (ALEXANDER, 1977).

Segundo MELLO e AZEVEDO (1998), atividades antrópicas podem afetar o funcionamento e diminuir a diversidade dos ecossistemas, resultando em desequilíbrios ecológicos de consequências imprevisíveis, e na extinção de espécies essenciais à manutenção do ecossistema. No solo, a diminuição da diversidade microbiana pode resultar em diminuição da ciclagem de nutrientes e do crescimento das plantas (REBER, 1992).

O tipo de preparo a que o solo é submetido afeta suas condições físico-químicas e reflete, de maneira marcante, sobre o desenvolvimento dos microrganismos e dos seus atributos biológicos. Os preparos conservacionistas (que movimentam pouco o solo) permitem a permanência dos resíduos vegetais na superfície, resultando em aumento na concentração de nutrientes, matéria orgânica, agrotóxicos e disponibilidade de água (CATTELAN et al., 1997b). Ademais, o solo fica protegido por mais tempo contra a erosão, da elevação exagerada da temperatura e da perda de umidade (GAUR e MUKHERJEE, 1980; BRAGAGNOLO e MIELNICZUK, 1990). Em consequência, a biomassa, a população e a atividade microbianas são, geralmente, maiores na camada superficial, quando comparadas com os solos submetidos a preparos não conservacionistas, caracterizados pela maior movimentação e pela inversão da camada arável (LYNCH e PANTING, 1980a, b; DORAN, 1980; CARTER e RENNIE, 1982; CATTELAN e VIDOR, 1990a, b).

Os sistemas conservacionistas de exploração agrícola, entre os quais o plantio direto, têm como princípio manter e/ou aumentar o teor de matéria orgânica do solo (MOS). Os resultados de muitos trabalhos têm mostrado aumento da MOS em áreas com adoção do sistema plantio direto, em comparação com outros tipos de manejo do solo. Atribui-se este aumento à proteção física e química da MOS, dada principalmente pela manutenção dos resíduos à superfície, alterações da estrutura do solo e pela rotação de culturas (HAVLIN et al., 1990; CARTER, 1992; CAMBARDELLA e ELLIOT, 1992; BAYER e BERTOL, 1999; SÁ, 2001), resultando no aumento da fauna (MUELLER et al., 1990; PARMELEE et

al., 1990) e da biomassa microbiana do solo (CARTER e RENNIER, 1982; FOLLETT e SCHIMEL, 1989; LIMA et al., 1994; BALOTA et al., 1998).

Segundo a Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha (FEBRAPDP, 2005), aproximadamente 22 milhões de hectares do território brasileiro são cultivados no sistema plantio direto.

O constante revolvimento da superfície do solo e a falta de cobertura vegetal no sistema convencional tendem a provocar maiores oscilações, tanto térmicas como de umidade, contribuindo, assim, para uma diminuição das populações de organismos do solo (CALEGARI, 1998). Pela maior concentração de resíduos e seus efeitos na superfície, o sistema plantio direto tende a facilitar um incremento na vida biológica do solo. Isto foi relatado, por exemplo, por VOSS e SIDIRAS (1985), que encontraram nodulação mais abundante e em maior profundidade no sistema plantio direto, quando comparado ao convencional.

Em um ambiente tão complexo quanto o solo, onde fatores químicos e físicos interagem continuamente, influenciando as condições de umidade, temperatura, reação do solo, aeração etc, pode se perceber que a comunidade bacteriana presente é regida fortemente pelo meio, afetando sobremaneira a composição microbiana, tanto qualitativamente quanto quantitativamente (DOMMERGUES e MANGENOT, 1970).

Segundo SIQUEIRA e FRANCO (1988), os principais fatores limitantes e práticas favoráveis à densidade e atividade de microrganismos no solo são:

a) Fatores limitantes - baixa disponibilidade de substratos; presença de antagonistas, parasitas e predadores; extremos de pH e temperatura; extremos de umidade e aeração; textura e composição mineralógica do solo; uso indiscriminado de pesticidas com elevada toxidez e largo espectro; deposição de metais pesados e outros princípios tóxicos; cultivo intensivo sem manejo adequado.

b) Práticas favoráveis - ajustamento das condições físico-químicas e estado nutricional do solo (ex: adição de matéria orgânica, fertilizantes, corretivos, drenagem);

modificação das condições biológicas, pela fumigação e pasteurização, visando à eliminação de antagonistas e competidores; inoculação do solo, sementes e mudas com microrganismos benéficos para o crescimento das plantas, agentes de controle biológico ou com ação agregante.

Parâmetros descrevendo a quantidade, atividade e diversidade dos microrganismos são também usados como indicadores biológicos de saúde e qualidade do solo (DORAN e PARKIN, 1996; SPARLING, 1997; STENBERG, 1999). Considerando-se esses indicadores, além de seu efeito sobre a produtividade agrícola, torna-se importante ampliar o conhecimento da influência do manejo do solo e da cobertura vegetal sobre a população microbiana (CATTELAN e VIDOR, 1990b).

O manejo do solo (incluindo sua cobertura vegetal) se reflete em suas características físicas, químicas e biológicas. A calagem e a adubação mineral ou orgânica favorecem o desenvolvimento microbiano de forma direta, pelo aumento do pH e pela disponibilidade de nutrientes às células dos microrganismos e, de forma indireta, pela maior produção vegetal, que acarreta um aumento da atividade rizosférica e dos resíduos adicionados ao solo. O manejo dos restos culturais e o grau de preparo do solo afetam sua temperatura, umidade, aeração e distribuição desses resíduos na camada arável. Tais práticas exercem grande influência sobre a biomassa e sobre a atividade da população microbiana, que respondem de maneira muito mais rápida a essas alterações do que os parâmetros edáficos, como o teor de matéria orgânica, que pode levar anos para apresentar mudanças significativas (CATTELAN e VIDOR, 1990a).

A rotação de culturas, aliada ao manejo correto do solo, faz com que ele seja biologicamente mais ativo e com maior potencial produtivo. Esse efeito se deve à conjunção de fatores como a proteção do solo mediante cobertura viva ou morta, a maior retenção de umidade, o efeito rizosférico das culturas, a maior disponibilidade de matéria orgânica e melhores condições físicas do solo, dentre outros. A rotação de culturas, além de contribuir para a quebra do ciclo dos patógenos, é muito importante para a manutenção ou aumento da biodiversidade do solo (CATTELAN et al., 1997a).

O preparo do solo afeta, também, a ecologia dos fungos micorrízicos e sua associação com as plantas, embora os efeitos sejam menos pronunciados do que os devidos à rotação de culturas e à adubação, principalmente com fósforo. Segundo SIQUEIRA e FRANCO (1988), as arações pouco profundas e as adubações mais leves favorecem as micorrizas, enquanto as adubações pesadas, a monocultura com espécies anuais e o uso indiscriminado de agrotóxicos prejudicam o seu desenvolvimento.

Solos submetidos ao plantio direto ou preparo reduzido apresentam um acúmulo superficial de resíduos orgânicos e nutrientes minerais, possibilitando a formação de uma camada de alguns centímetros muito favorável ao desenvolvimento microbiano (DORAN, 1980). Com o aumento da profundidade, as condições tornam-se adversas e a população microbiana diminui. No preparo convencional, onde a aração é feita até cerca de 20cm, ocorre uma incorporação mais uniforme dos resíduos, resultando numa distribuição mais homogênea da população microbiana na camada arável (CATTELAN e VIDOR, 1990b).

2.3. Biomassa microbiana

A biomassa microbiana do solo é definida como o componente microbiano vivo composto de bactérias (actinomicetos), fungos, microfauna e algas. O conceito de que, para determinados estudos, toda a população microbiana poderia ser tratada como um todo foi proposto por JENKINSON (1966). Para se ter uma idéia da diversidade e quantidade de microrganismos, RITZ et al. (1994) citam que 1cm³ de solo sob pastagem pode conter milhões de bactérias, milhares de protozoários, centenas de metros de hifas de fungos, centenas de fungos, insetos e outros organismos maiores.

A biomassa microbiana é um componente crítico de todos os ecossistemas naturais ou manipulados pelo homem, porque é o agente regulador da taxa de decomposição da matéria orgânica e da ciclagem dos elementos (JENKINSON e LADD, 1981), atuando, portanto, como fonte e dreno (“source” e “sink”) dos nutrientes necessários ao crescimento das plantas (LADD et al., 1985). Já foram constatadas relações estreitas entre a biomassa

microbiana e a produtividade das plantas (OKANO et al., 1987), a taxa de amonificação (HOLMES e ZAK, 1994), a taxa de decomposição de resíduos vegetais (FLANAGAN e VAN CLEVE, 1983) e a biomassa dos níveis tróficos superiores (WARDLE, 1994).

A dinâmica da biomassa microbiana está estreitamente correlacionada à dinâmica da matéria orgânica do solo. A maioria dos sistemas naturais é fortemente limitada por nutrientes (GOTTSCHAL, 1990), o que faz com que os microrganismos tenham crescimento lento, ou mesmo fiquem em estado dormente. Nessas condições, as células ficam estressadas e, durante longos períodos, pode ser constatada a ausência de replicação do cromossomo (CHESBORO et al., 1990).

A biomassa microbiana responde rapidamente à adição de carbono (C) e nitrogênio (N) prontamente disponíveis (NORDGREN, 1992), o que sugere que a maioria dos componentes da microflora está limitada pelo C e pelo N (KNAPP et al., 1983; COCHRAN et al., 1988). A biomassa microbiana, entretanto, está mais freqüentemente relacionada ao N do que ao C do solo (MARTENS, 1987; VAN DE WERF e VERSTRAETE, 1987) e a proporção do C orgânico do solo imobilizado na biomassa microbiana (ou relação C da biomassa:C orgânico) está, freqüentemente, correlacionada negativamente com a relação C:N no solo.

A biomassa microbiana funciona como um importante reservatório lábil de vários nutrientes essenciais às plantas, desempenhando um papel fundamental na ciclagem de nutrientes e na funcionalidade dos ecossistemas. A biomassa microbiana pode armazenar, aproximadamente, 1 a 4% do C total, 2 a 6% do N total e 2 a 5% do P total do solo, sendo fundamental na manutenção e produtividade de vários ecossistemas naturais e de muitos agrossistemas, os quais dependem, em grande parte, de processos mediados pelos microrganismos, como a decomposição da matéria orgânica (GRISI e GRAY, 1986; JENKINSON e LADD, 1981). Quando em condições ambientais favoráveis, a extensão do “turnover” da matéria orgânica do solo é controlada, principalmente, pelo tamanho e atividade da biomassa microbiana. O material orgânico incorporado ao solo constitui a força motriz dos processos metabólicos envolvendo vários nutrientes essenciais, pois é

convertido em energia e novos metabólitos pela população microbiana dos solos (MARTENS, 1995). Desse modo, uma alta correlação entre C orgânico e C microbiano tem sido verificada (ANDERSON e DOMSCH, 1989; WEIGAND et al., 1995).

Os trabalhos envolvendo análise da biomassa microbiana podem fornecer informações extremamente úteis sobre a dinâmica de um reservatório lábil da matéria orgânica do solo, indicar modificações nas suas propriedades biológicas, decorrentes de práticas agrícolas, como *diferentes tipos de manejo e diferentes culturas* (ALVAREZ et al., 1995; ANDRADE e HAMAKAWA, 1994; CATTELAN e VIDOR, 1990b; FRANZLUEBBERS et al. 1995; JORDAN et al., 1995); *efeito do uso de fertilizantes orgânicos ou químicos e biocidas em geral* (ANDERSON e DOMSCH, 1989; BARDGETT e LEEMANS, 1995; BIEDERBECK, et al., 1987; CHENG e COLEMAN, 1990; FLIEßBACH et al., 1994; JORDAN et al., 1995; LOVELL e JARVIS, 1996); *desmatamento e formação de pastagens* (PFENNING, et al., 1992), além de ser um *indicador mais sensível de mudanças edáficas e biológicas*, ao contrário de análises químicas e físicas em solos sob impacto, como por exemplo, metais pesados (ANDERSON e DOMSCH, 1989; BROOKES, 1995; BROOKES et al., 1986; BROOKES e McGRATH, 1984; FRANZLUEBBERS et al., 1995; GRISI e GRAY, 1986; POWLSON et al., 1987). Isso tudo pode ter conseqüências importantes no funcionamento do ecossistema e na “qualidade” do solo, refletindo, a longo prazo, na produtividade (WARDLE, 1994).

Os microrganismos do solo podem aumentar em número e em atividade quando há acréscimo da matéria orgânica no mesmo, desde que outros elementos nutricionais estejam presentes (ALEXANDER, 1967).

O método da fumigação-incubação tem sido utilizado como padrão para calibração dos outros métodos na quantificação da biomassa microbiana dos solos. Esse método tem como princípio básico que as células mortas da biomassa indígena pelo fumigante são usadas como substrato durante a recolonização da população mediante inóculo, durante um período padrão de 10 dias de incubação aeróbica. Diferenças nas propriedades químicas e físicas dos solos podem mascarar os resultados de biomassa obtidos pelo método da

fumigação-incubação. O método da fumigação-extração apresenta como princípio básico a extração do C microbiano após a morte dos microrganismos e quebra (“lise”) celular pelo ataque do clorofórmio e liberação dos constituintes celulares, os quais são degradados por autólices enzimáticas e transformados em componentes extraíveis (JOERGENSEN, 1995). Este método apresenta restrições quando se trabalha com solos com $\text{pH} < 4,5-5,0$, que não contenham fontes de carbono facilmente degradáveis, solos secos ao ar ou aqueles que receberam recentes adições de substratos orgânicos frescos. Essas limitações podem ser superadas quando se utiliza o método da fumigação-extração (BROOKES, et al., 1986; DUMONTET e MATHUR, 1989; MARTENS, 1995).

No Brasil, a maior parte dos estudos envolvendo comparações entre os métodos de fumigação-extração e fumigação-incubação foi realizada na Amazônia, tendo sido observada uma correlação positiva avaliando a eficiência dos métodos fumigação-extração e fumigação-incubação nos seus solos, por PFENNING et al. (1992).

Comparando-se os dois métodos em amostras de LATOSSOLOS e ARGISSOLOS da Amazônia, sob vegetação de mata nativa (profundidade de 0-10cm), quando o controle não fumigado não foi subtraído das amostras fumigadas houve boa correlação entre os teores de biomassa estimados pelos métodos fumigação-extração e fumigação-incubação (FEIGL et al., 1995).

RODRIGUES et al. (1994), em estudos realizados em Itaguaí (RJ), observaram correlação entre os dois métodos, quando compararam os teores de carbono na biomassa microbiana determinados pelos métodos fumigação-extração e fumigação-incubação em três tipos de solo.

OLIVEIRA et al. (2001), de posse do conhecimento sobre as vantagens e desvantagens entre os dois métodos, e tendo em vista os resultados obtidos, concluíram que estes foram apropriados para a determinação do carbono da biomassa microbiana em solos de cerrado sob vegetação nativa e incorporados ao processo agrícola. A utilização de

métodos padronizados, desde a coleta e preparo até a análise das amostras, constitui condição básica para validar tais métodos.

Solos sob diferentes usos diferiram quanto ao teor de carbono total, carbono microbiano, agregação e fungos micorrízicos, em relação ao solo de cerrado original, estando as alterações mais evidentes na camada superficial. O ecossistema natural de cerrado apresentou teor de carbono total, carbono microbiano, relação C microbiano/C total e estabilidade de agregados, indicando maior equilíbrio natural no desenvolvimento das plantas (ALVARENGA et al., 1999).

2.4. Respiração microbiana do solo

Várias definições têm sido aplicadas ao termo respiração. ANDERSON (1982) definiu-a como sendo um processo de produção de energia no qual compostos orgânicos ou inorgânicos reduzidos atuam como doadores de elétrons. Constitui um processo universal, não sendo restrito aos microrganismos dos solos. Representa o mais antigo e mais utilizado parâmetro para quantificar a atividade metabólica nos solos (KIEFT e ROSACKER, 1991), podendo ser avaliado a partir da evolução do CO₂, ou consumo de O₂ e dividida em dois tipos, segundo ALEF (1995): 1) respiração basal, definida como a respiração sem a adição de substrato ao solo; e 2) respiração induzida pelo substrato, como a respiração do solo avaliada quando se adiciona um substrato específico, como, por exemplo, glicose, aminoácidos, sacarose etc.

Geralmente, a atividade microbiana é avaliada pela evolução de CO₂, podendo ser altamente influenciada por diversos fatores do solo, como teor de água, temperatura, estrutura do solo e disponibilidade de nutrientes (ALEF, 1995).

2.5. Parâmetros físicos do solo

2.5.1. Agregados

A partir de processos físicos, físico-químicos e biológicos, as partículas primárias do solo (areia, silte e argila) agrupam-se em unidades compostas, chamadas agregados, elementos estruturais ou unidades estruturais, que diferem entre si em forma, tamanho, estabilidade e coerência. O conjunto de agregados, com todas essas características, forma a estrutura do solo (GROHMANN, 1960).

De acordo com RUSSEL e RUSSEL (1954), os principais fatores que influenciam na agregação e estrutura do solo são: matéria orgânica, microrganismos, alternância de umedecimento e secagem, tipo de argila, ação mecânica do sistema radicular e ação biológica da fauna do solo, principalmente as minhocas, que agregam os materiais do solo após uma ingestão e excreção.

Para haver formação de agregados no solo são necessárias duas condições fundamentais: primeira, que uma força mecânica qualquer provoque a aproximação das partículas do solo. Esse movimento pode ser causado pelo crescimento das raízes, por animais de hábito terrestre, pelo fenômeno da expansão e contração do solo, provocado pelo molhamento e secagem alternados ou pela floculação. A segunda condição é a de que, após o contato entre as partículas, haja um agente cimentante para consolidar essa união, gerando o agregado (KIEHL, 1979).

Por serem características dinâmicas, a agregação e a estrutura são facilmente alteradas, positiva ou negativamente, pelas condições de manejo do solo e também pelos fatores naturais (YODER, 1936).

A alteração na temperatura do solo, com a mudança da cobertura vegetal, também modifica o estado de agregação, uma vez que altera o comportamento dos agentes cimentantes das partículas (COSTA PINTO, 1980).

2.5.2. Densidade do solo

A densidade do solo pode ser definida como sendo a relação existente entre a massa de uma amostra de solo seca a 110°C e a soma dos volumes ocupados pelas partículas e pelos poros. Ela pode aumentar em função das pressões exercidas pelo trato do solo (cultivo), provocando o fenômeno da compactação e reduzindo a porosidade, a determinadas profundidades. A movimentação de material fino dos horizontes superiores para os inferiores, por eluviação, também concorre para reduzir os espaços porosos e aumentar a densidade dessas camadas (KIEHL, 1979).

De acordo com BAYER et al. (1956), a compactação refere-se ao aumento da densidade do solo, resultante da pressão ou sobrecarga aplicada. Esse aumento da densidade é função do esforço compactador e do teor de umidade do solo; um esforço compactador constante faz aumentar progressivamente a densidade, com o conteúdo de água até a um máximo, decrescendo, em seguida, com posteriores adições de água.

2.5.3. Densidade das partículas

A densidade das partículas refere-se ao volume de sólidos de uma amostra de terra, sem considerar a porosidade. Por definição, entende-se densidade das partículas como sendo a relação existente entre a massa de uma amostra de solo e o volume ocupado pelas suas partículas sólidas. Também pode ser designada como peso do volume de sólidos, massa específica real e peso específico real (KIEHL, 1979).

2.5.4. Porosidade

Dentre as propriedades físicas do solo sujeitas a alterações pelo manejo, merecem especial atenção aquelas relacionadas com o volume e com a distribuição do espaço poroso, visto que é nesse espaço que se processam os principais fenômenos que regulam o crescimento e a produção vegetal, tais como: reações químicas e biológicas, difusão de gases e íons, movimento e retenção de água, penetração de raízes etc (SCARDUA, 1972).

A porosidade total, por si só, não tem muita utilidade prática, uma vez que tem pouca relação com os fenômenos do solo que regulam o crescimento do vegetal. Então, para se obterem informações mais completas, deve se incluir também a distribuição de poros por tamanho (VOMOCIL, 1965).

Muitas vezes, a porosidade total do solo e a distribuição do tamanho de poros são utilizadas para se definir qualitativamente a estrutura do solo. Para KIEHL (1979), uma estrutura pobre possui pouco espaço poroso e muitos poros pequenos, com drenagem fraca, de maneira que apenas uma pequena porção está ocupada por ar (menos de 10% do volume do solo).

A distribuição de poros é uma característica do solo altamente modificada pelo seu uso, uma vez que depende da variação de outras características também dinâmicas. Assim, um aumento na densidade do solo provoca, normalmente, uma redução na porosidade total e nos macroporos (GANTZER e BLAKE, 1978). Já o aumento na atividade biológica do solo, como aquele promovido pela grande quantidade de raízes das gramíneas forrageiras, tende a melhorar o estado de agregação e, segundo BAVER et al. (1956), provoca um aumento na macroporosidade, com redução da microporosidade.

2.6. Parâmetros químicos do solo

A avaliação da fertilidade do solo é o primeiro passo para a definição das medidas necessárias para a correção e o manejo da sua fertilidade. A análise química (complexo trocável, pH e C) é um dos métodos quantitativos mais utilizados para diagnosticar a fertilidade (EMBRAPA, 1999).

3 Material e Métodos

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização do local de coleta do material (solo)

A Fazenda Experimental do Centro Nacional de Pesquisa da Soja da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Soja) está localizada no distrito de Warta, Londrina, Paraná, em um LATOSSOLO VERMELHO Distroférrico.

O clima em Londrina é subtropical úmido, *Cfa*, de acordo com a classificação de Köppen. Considerando o período de 1976 a 2004, a temperatura média anual em Londrina é de 21,0°C, com a temperatura média máxima de 27,2°C, mínima de 16,6°C e precipitação pluviométrica de 1.605 mm. Em janeiro, mês de coleta do ensaio, a temperatura média máxima é de 29,6°C, a mínima de 19,6°C, a pluviosidade média de 201,6 mm, com 209,7 h de insolação (IAPAR, 2005).

A área experimental utilizada da Fazenda Experimental da Embrapa Soja foi dividida em 60 parcelas (1-60) de mesmo tamanho (7,5m x 30,0m), que se diferenciaram pelos diferentes sistemas de manejo do solo e pelos diferentes sistemas de rotação de culturas a que são submetidas, onde os plantios vêm sendo conduzidos desde a safra agrícola 1988/1989.

As coletas do solo (camada de 0-10 cm) foram realizadas no ano agrícola 2001/2002, nas entre-linhas das plantas, sempre pela manhã, nos períodos pós-colheita de inverno (04/09/01), pré-aração de verão (03/10/01), pós-aração de verão (17/10/01), pós-plantio de verão (07/11/01, 05/12/01) e florescimento de verão (16/01/02). Foram consideradas as parcelas dos seguintes **sistemas de manejo**: plantio direto (PD), onde se passava apenas a semeadeira; cruzador (C), que é um tipo de escarificador e plantio convencional (PC), este último com arado de disco seguido de grade niveladora, aplicação do herbicida e mais uma grade niveladora para incorporar. Todas as parcelas, PD, PC e C, possuíam os seguintes **sistemas de cultura**: rotação (R) e sucessão (S) (trigo - *Triticum*

aestivum, soja - *Glycine max*). Assim, as amostras de solo foram coletadas de parcelas com seis características diferentes: PD (R e S), PC (R e S) e C (R e S), mas cada quatro parcelas diferentes possuíam as mesmas características, como, por exemplo, as parcelas 4, 24, 34 e 50 (Figura 1). Desta forma, perfizeram um número total de 24 amostras (A1-A24), esquematizadas na Figura 1, na qual cada retângulo está representando uma parcela com o diferente tipo de sistema de manejo e de sistemas de cultura, bem como o número da amostra correspondente ao solo coletado.

No sistema de rotação as culturas utilizadas foram: tremoço (*Lupinus albus*)/milho (*Zea mays*)/aveia preta (*Avena strigosa*)/soja/trigo/soja/trigo/soja) de culturas.

Na safra 2001/2002 utilizou-se no sistema em rotação o milho Pionner 3041 (Híbrido) com as seguintes médias de produção: PD 8.581,0kg/ha, PC 8.624,0kg/ha, C 8.908,3kg/ha. O milho foi antecedido pelo tremoço.

No sistema em sucessão a soja BRS 133 teve as seguintes médias de produção: PD 3.310,1kg/ha, PC 2.814,7kg/ha, C 3.252,9kg/ha. O trigo antecedeu à soja.

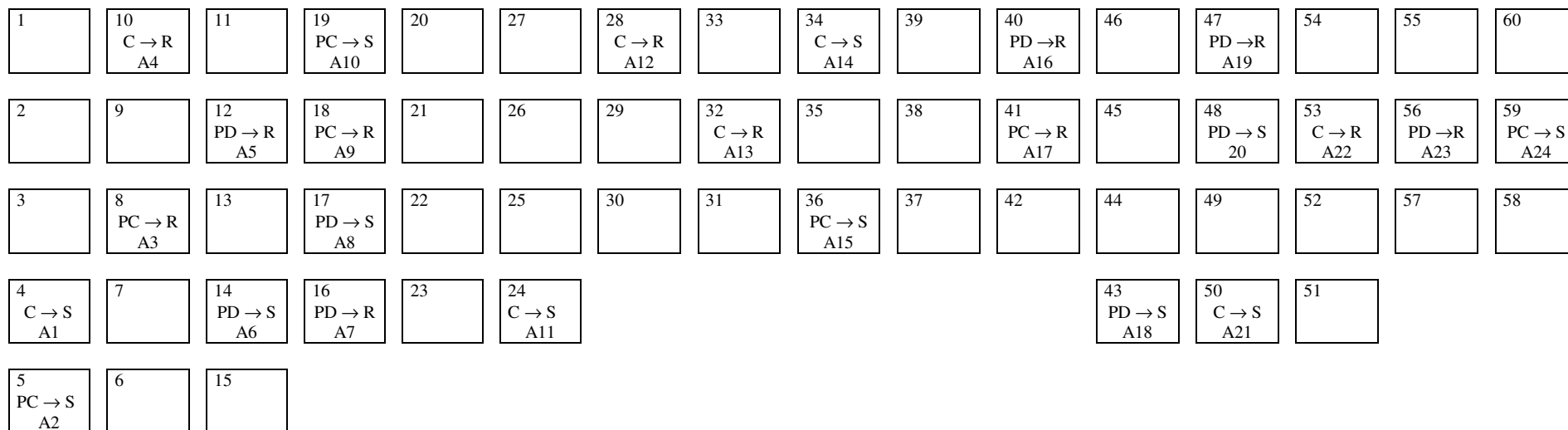


FIGURA 1: Croqui da área experimental.

Sistemas de manejo:

C = cruzador

PC = plantio convencional

PD = plantio direto

Obs.: após o uso do cruzador o terreno nunca foi nivelado.

Sistemas de cultura:

R = rotação

S = sucessão

Amostra = A1-A24

Parcelas = 1-60

3.2. Coleta das amostras

De cada uma das parcelas da Figura 1 foram coletadas seis sub-amostras, que foram homogeneizadas, peneiradas (4mm - 5 mesh) e armazenadas em saco plástico, dando origem a uma amostra composta com mais ou menos 1kg de solo. Ex.: parcela 4 → 6 sub-amostras → amostra 1 (A1). O total de amostras coletadas foi 24, sendo cada amostra correspondente a uma parcela.

A profundidade do solo em que as amostras foram extraídas foi de 0-10cm, utilizando-se uma pá, nas entrelinhas, com peso variando entre 1-1,5kg.

Cada amostra foi destinada a três diferentes tratamentos: secagem em estufa, fumigação-incubação, fumigação-extração (Figura 2).



FIGURA 2: Esquema simplificado do sistema analítico para determinação da biomassa microbiana do solo. **Obs:** foram feitas seis amostragens entre o final de inverno de 2001 e o início do verão de 2002:

1ª coleta: 04/09/2001
 2ª coleta: 03/10/2001
 3ª coleta: 17/10/2001

4ª coleta: 07/11/2001
 5ª coleta: 05/12/2001
 6ª coleta: 16/01/2002

3.3. Secagem em estufa

Para se chegar ao valor do peso seco de cada amostra do solo, foram pesados 10g de solo de cada amostra, colocados em 24 diferentes frascos de 100mL. O peso de cada frasco foi anotado para ser descontado do valor do peso seco do solo após sua secagem. Os 24 frascos (24 amostras) foram colocados em estufa por 12 horas à temperatura de 105°C. Após as 12 horas efetuou-se a pesagem dos frascos (Figura 3).

3.4. Cálculo para determinação da umidade das amostras antes da incubação

O cálculo para determinação da umidade das amostras (UA), com base em peso, foi realizado utilizando-se a fórmula:

$$\text{UA em Ug (\%)} = \frac{\text{su (solo úmido)} - \text{ss (solo seco)}}{\text{ss (solo seco)}} \times 100$$

3.5. Cálculo para determinação da umidade desejada das amostras

O cálculo para determinação da umidade desejada das amostras (UD) foi realizado conforme a equação abaixo, onde a umidade desejada - UD era de 75% da capacidade do campo e a capacidade do campo - CC (área de coleta das amostras) era de 32% de Ug:

$$\text{UD} = 0,75 \times \text{CC}$$

$$\text{UD} = 0,75 \times 32$$

$$\text{UD} = 24\%$$

3.6. Cálculos para correção de umidade das amostras para incubação

Os cálculos para correção da umidade das amostras foram realizados utilizando-se descrição de Cattelan, A.J. em “Procedimentos para Determinação da Biomassa Microbiana”, conforme esquematizado na Figura 3.

UD (item 3.5.) - UA (item 3.4.) = X% de Ug (XmL/100g de solo seco)

Se 10g de solo úmido - Yg de solo seco

então, 100g de solo úmido - Zg de solo seco

Desta forma, a quantidade de água a ser adicionada (WmL) para incubação (correção da umidade da amostra) será:

XmL - 100g de solo seco

WmL - Zg de solo seco

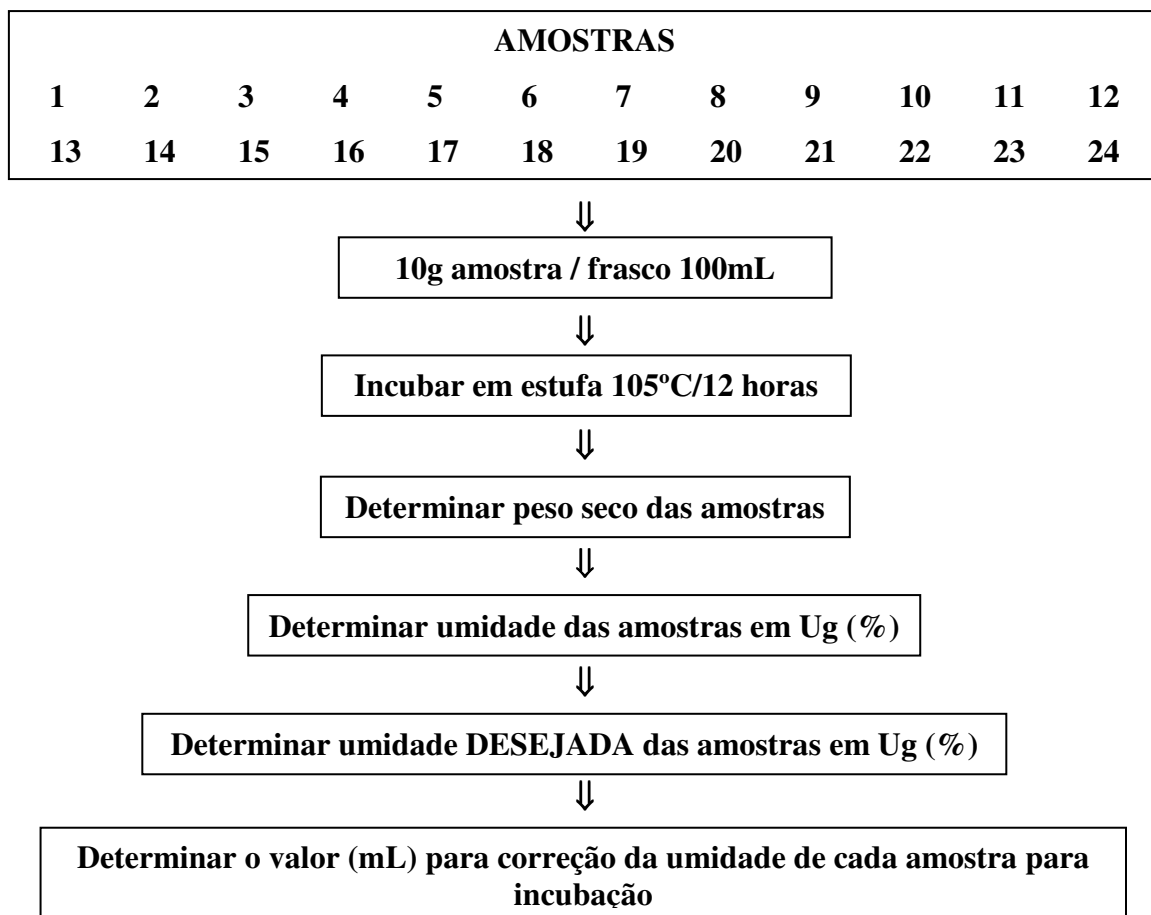


FIGURA 3: Esquema simplificado para determinar a correção da umidade das amostras analisadas.

3.7. Fumigação-incubação

3.7.1. Preparo das amostras

Neste processo foram pesadas cinco sub-amostras de cada amostra de solo (24 amostras no total), com peso de 100g cada, e colocadas em frascos de 300mL, sendo que duas foram fumigadas e incubadas (duplicata; total de 48 fumigações), duas **não** foram fumigadas, mas foram incubadas (duplicada; total de 48) e uma foi tratada com sacarose e incubada (total de 24), perfazendo um total de 120 frascos. Foram também preparadas 4 amostras em branco.

3.7.2. Amostras fumigadas

Os frascos contendo cada uma das amostras a serem fumigadas (24 amostras em duplicata = 48) foram colocados em cinco dessecadores (10 frascos/dessecador e 1 dessecador com 8 frascos), contendo 50mL de clorofórmio, em placa de Petri. Foi adicionado papel toalha umedecido na parede interna dos dessecadores os quais foram fechados com a utilização de vaselina, submetidos a vácuo por um período de 5-10 minutos e deixados em repouso no escuro por 12 horas, em temperatura ambiente, no escuro (o ambiente escuro previne a degradação do clorofórmio). Após as 12 horas os dessecadores foram abertos para retirar o papel toalha e o clorofórmio, e para aerar um pouco as amostras, para se proceder a “lavagem” (eliminação do clorofórmio) das mesmas. Os dessecadores foram fechados novamente e o ar interno foi retirado, criando vácuo por cerca de 3 minutos. Este procedimento foi repetido de 5-6 vezes, para a eliminação quase que total do clorofórmio.

Com base nos cálculos feitos nos itens 3.3., 3.4. e 3.5., as umidades de todas as amostras fumigadas foram corrigidas para 24% da capacidade de campo, mediante adição de H₂O deionizada. Às mesmas amostras foi também adicionado 1g do solo da mesma amostra (reinoculação), seguindo-se agitação para homogeneização.

Após estes procedimentos, foi realizada a incubação das amostras em potes de conserva de 2 litros, dentro dos quais, além do frasco contendo o solo de interesse, foram colocados um frasco de 100mL contendo 50mL de NaOH 0,5N e um pote plástico (embalagem de filme fotográfico) com 20mL de água. Vaselina foi adicionada na borracha de vedação dos frascos, os quais foram então tampados. Os potes foram incubados no escuro, a 25°C, por 10 dias. Para cada repetição, foi incubado um frasco sem solo (branco), mas com NaOH 0,5N e H₂O deionizada.

3.7.3. Amostras não fumigadas

Os frascos contendo cada uma das amostras que não foram fumigadas (24 amostras em duplicata = 48) foram deixados em repouso no escuro por 12 horas, em temperatura ambiente.

Com base nos cálculos feitos nos itens 3.3., 3.4. e 3.5., as umidades de todas as amostras **não** fumigadas foram corrigidas pela adição de H₂O deionizada, e a seguir foram agitadas para homogeneização.

Após estes procedimentos, foi realizada a incubação das amostras como descrito no último parágrafo do item 3.7.1..

3.7.4. Amostras recebendo sacarose

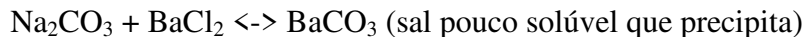
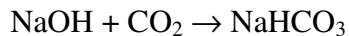
Cada um dos frascos contendo cada uma das amostras (24 amostras) foi deixado em repouso, no escuro, por 12 horas, em temperatura ambiente.

Com base nos cálculos apresentados nos itens 3.3., 3.4. e 3.5., as umidades de todas as amostras foram corrigidas pela adição de H₂O deionizada. Às mesmas amostras foi também adicionado 1g de açúcar, seguindo-se agitação para homogeneização.

Após estes procedimentos, foi realizada a incubação das amostras como descrito no último parágrafo do item 3.7.1.. Até a terceira coleta foi utilizado NaOH 0,5N, e da quarta até a sexta coleta, o NaOH utilizado foi de 1N.

3.7.5. Determinação de C-CO₂ por titulação após desincubação das amostras

Para este procedimento utilizou-se o princípio de volumetria de neutralização para determinação de C-CO₂ presente numa solução de NaOH 0,5N. Após desincubação das amostras dos itens 3.7.2., 3.7.3. e 3.7.4., o NaOH presente nos potes de cada amostra foi titulado com HCl 0,2N padronizado. Para isso, adicionou-se 1mL de solução saturada de BaCl₂ para retirada de carbonato do meio (Na₂CO₃), em cada frasco contendo 5mL do NaOH (previamente incubado), 20mL de H₂O deionizada e três gotas do indicador (fenolftaleína), mantendo a solução agitada por agitador magnético. As amostras em branco também foram tituladas. Vale lembrar que, na presença de NaOH, não há NaHCO₃ formado, pois estas substâncias reagem entre si ($\text{OH}^- + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CO}_3^{=} + \text{H}_2\text{O}$), formando Na₂CO₃. Por sua vez, este produto vai reagir com BaCl₂ e precipitar, retirando o carbonato do meio:



3.7.6. Cálculo do C-CO₂ liberado

Após titulação do NaOH, conforme descrito no item anterior, procedeu-se ao cálculo do C-CO₂ liberado das amostras fumigadas, não fumigadas e tratadas com sacarose, utilizando-se a fórmula:

$$\text{C-CO}_2 = (B - V) \times N \times E$$

onde,

V = volume (mL) de HCl gasto na titulação do NaOH

B = volume (mL) de HCl gasto para titular a prova em branco (usar a média de todas as provas)

N = normalidade do HCl

E = 6 (equivalente grama do C)

Os dados finais são expressos em mg de carbono liberado na forma de gás carbônico (mg C-CO₂) por 100g de solo seco, mas para que isto ocorra deve-se corrigir o solo úmido para solo seco, multiplicando-se o valor obtido utilizando-se a fórmula acima pelo fator de correção da umidade. O fator de correção da umidade foi calculado da seguinte forma:

$$Fc = (UA \div 100) + 1$$

onde,

UA = - umidade da amostra em %UA

Fc = fator de correção

Para o cálculo da biomassa microbiana utilizando o C-CO₂, utilizou-se a fórmula abaixo:

$$B = \frac{X - Y}{K}$$

onde,

B = biomassa, expressa em mg de C microbiano/100g de solo seco

X = C-CO₂ liberado pelo solo fumigado no período de 0-10 dias (mg/100g de solo seco)

Y = C-CO₂ liberado pelo solo **não** fumigado no período de 0-10 dias (mg/100g de solo seco)

K ou K_C = fator de correção de 0,411 (fração da biomassa mineralizada em 10 dias) (ANDERSON e DOMSCH, 1978).

3.8. Método da fumigação-extração

Fumigação-extração é um outro tratamento no qual as 24 amostras de solo foram submetidas. Neste processo foram pesadas quatro repetições de cada amostra de solo, com peso de 20g cada, em frascos de 300mL, sendo que duas foram fumigadas (duplicata; total de 48 fumigações) e duas não foram fumigadas (duplicada; total de 48), perfazendo um total de 96 frascos.

3.8.1. Amostras fumigadas

Os frascos contendo cada uma das amostras a serem fumigadas (24 amostras em duplicata = 48) foram colocados em cinco dessecadores (10 frascos/dessecador e 1 dessecador com 8 frascos). O processo de fumigação foi realizado conforme descrito no primeiro parágrafo do item 3.7.1..

3.8.2. Amostras não fumigadas

Os frascos contendo cada uma das amostras que não foram fumigadas (24 amostras em duplicata = 48) foram deixados em repouso no escuro por 12 horas em temperatura ambiente.

Todas as amostras de solo dos itens 3.7.2., 3.7.3., 3.7.4., 3.8.1. e 3.8.2., após todos os processos descritos acima, foram submetidas ao processo de extração do carbono e do nitrogênio no qual se adicionam 50mL de solução extratora (K_2SO_4 0,5M) em cada frasco de amostra, agitando-se a 170-175rpm por uma hora, sendo que das amostras dos itens 3.7.2., 3.7.3. e 3.7.4. foram retiradas 20g de solo e recolocados em frascos de 300mL para este procedimento.

Ao terminar a agitação as amostras foram transferidas para tubos plásticos de centrífuga, operando os mesmos durante 10 minutos a 3.000rpm. O sobrenadante de cada amostra foi filtrado e o material resultante da filtragem submetido às análises de C e N.

3.8.3. Determinação de carbono da biomassa microbiana extraído pelo método da fumigação-extração

Estas determinações foram obtidas pela oxidação do carbono orgânico por $KMnO_4$ (permanganato de potássio).

Dos extratos filtrados foram retiradas alíquotas de 0,5mL, transferidas para tubos de ensaio e adicionado 0,5mL da solução extratora (K_2SO_4 0,5M), 1mL da solução de Mn (III) - pirofosfato, 1mL de H_2SO_4 concentrado. Foi preparada uma curva padrão de 0 (K_2SO_4 0,5M) a 120mg/L de C utilizando ácido oxálico; pipetaram-se 1mL dos padrões, 1mL de Mn (III) - pirofosfato e 1mL de H_2SO_4 concentrado. Homogeneizou-se o conjunto por agitação, deixando-o em repouso por, no mínimo, 16 horas e, depois, efetuou-se a leitura em espectrofotômetro digital B342 (Micronal) a 495nm (absorbância).

3.8.3.1. Preparo da solução Mn (III) - Pirofosfato

Para aproximadamente 100mL de água destilada em balão volumétrico de 250mL, adicionaram-se, na seguinte ordem: 75mL $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (pirofosfato) 0,1M; 12mL de H_2SO_4 0,5M e 5mL de KMnO_4 (permanganato) 0,1M. Misturou-se imediatamente e adicionaram-se, com agitação, 20mL de MnSO_4 0,1M e completou-se o volume.

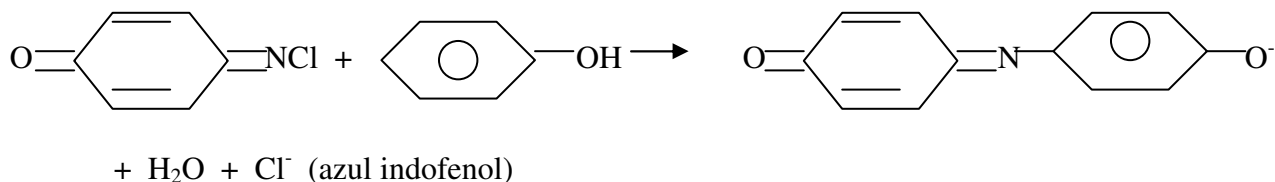
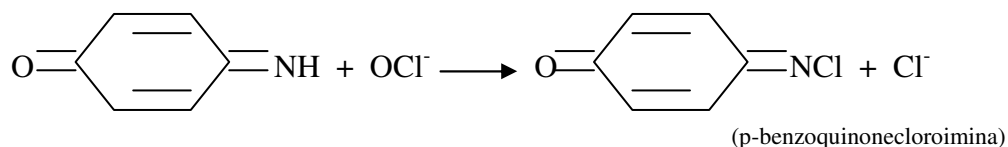
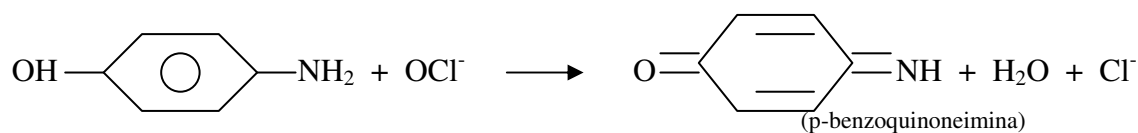
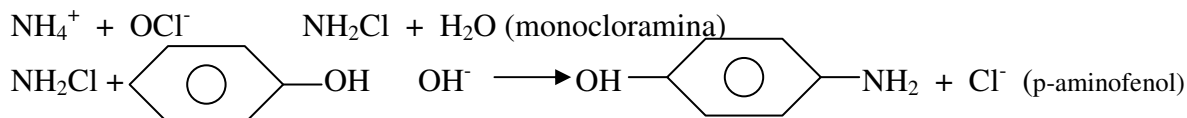
Obs.: A solução de pirofosfato deve ser preparada no dia.

3.8.4. Determinação do nitrogênio da biomassa microbiana extraído pelo método da fumigação-extração

Dos extratos filtrados foram retiradas alíquotas de 20mL, transferidas para tubos de digestão, adicionando-se cerca de 500mg de catalisador ($\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$, 10:1) e 1,5mL de H_2SO_4 concentrado. As amostras tiveram seu volume reduzido pela manutenção em estufa a 105°C por uma noite. Para digestão das amostras, a temperatura do bloco digestor foi mantida a 200°C por 30 minutos e depois a 300°C, por mais 30 minutos. Depois da digestão foram feitas duas diluições sucessivas, sendo a primeira com 30mL de H_2O destilada e, em seguida, transferiu-se para tubos de ensaio 1mL desta amostra diluída, a qual foram adicionados 9mL de H_2O destilada, sendo esta a segunda diluição. Essas determinações foram obtidas por reação colorimétrica.

Da segunda diluição retirou-se uma alíquota de 2mL, que foi transferida para outros tubos de ensaio, onde foram adicionados 7mL de solução A, 1mL de solução B e 1mL da solução C. Foi preparada uma curva padrão nas concentrações entre 0 e 8mg/L de N, com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Após duas horas de repouso foi feita a leitura da amostra em espectrofotômetro digital B342 (Micronal) no comprimento de onda de 630nm.

No princípio em que se baseia o método, o NH_4^+ reage com NaOCl e $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ em meio alcalino formando uma solução de coloração azul, azul de indofenol, conforme a reação.



3.8.4.1. Preparo das soluções

a) Foram pesadas 12,7g de $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ e dissolvidas em 900mL de H_2O destilada. Ajustou-se o pH da solução para 10,0 e completou-se até 1.000mL com H_2O destilada.

b) **Solução A:** Pesou-se 5,0g de NaOH , adicionaram-se 30mL da solução de $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ pH10,0 e completou-se o volume até 2.000mL com H_2O destilada.

c) Solução B: Pesaram-se 10g de Fenol Cristal (C_6H_5OH)-PA, 0,05g de $Na_2[Fe(CN)_5NO].2 H_2O$, dissolveu-se em H_2O destilada e completou-se o volume para 1000mL.

d) Solução C: Pesou-se 5,0g de NaOH; 9,4g de $Na_2HPO_4.12 H_2O$ (Sódio Fosfato Bibásico Dodecahidratado); 31,8g de $Na_3PO_4.12 H_2O$ (Fosfato de Sódio Tribásico Trissódico); 20,0mL de NaOCl (Hipoclorito de Sódio) 4-6%.

Dissolveu-se em H_2O destilada e completou-se o volume para 1000mL.

Obs.: Essas soluções foram conservadas em geladeira.

3.8.5. Cálculo do C da biomassa microbiana pelo método da fumigação-extração

Para o cálculo do C da biomassa microbiana utilizou-se a fórmula abaixo:

$$B = \frac{X - Y \text{ ou } (E_C)}{K \text{ ou } kE_C}$$

onde,

B = biomassa, expressa em C microbiano

X = C liberado pelo solo fumigado

Y = C liberado pelo solo não fumigado

K = 0,45

3.8.6. Cálculo do N da biomassa microbiana pelo método da fumigação-extração

Para o cálculo do N da biomassa microbiana utilizou-se a fórmula abaixo:

$$B = \frac{X - Y \text{ ou } (E_N)}{K \text{ ou } kE_N}$$

onde,

B = biomassa, expressa em C microbiano

X = N liberado pelo solo fumigado

Y = N liberado pelo solo não fumigado

K ou kE_N = 0,54

3.9. Correção da umidade após incubação

A umidade após incubação foi corrigida conforme descrito nos itens 3.3 até 3.6.. Para isso, 10g de cada amostra após incubação (itens 3.7.1., 3.7.2. e 3.7.3.), foram colocadas em frascos de 100mL e os procedimentos realizados como previamente descritos.

3.10. Análises estatísticas

O delineamento experimental de campo (COCHRAN e COX, 1957), foi o de blocos ao acaso com os tratamentos em esquema fatorial com: 3 sistemas de preparo do solo (Plantio Direto, Plantio Convencional e Cruzador) X 2 Sistemas de Cultivo (Rotação e Sucessão), totalizando seis combinações de tratamentos, com quatro repetições por tratamento.

Para as análises estatísticas foi utilizado o programa Statistical Analysis System (SAS) versão 8.2 (2001). Anterior as análises de variância foram observados se os dados de pesquisa apresentavam os seguintes pressupostos:

- a) Distribuição normal para os resíduos (SHAPIRO e WILK, 1965);
- b) Homogeneidade de variâncias para os tratamentos (HARTLEY, 1940; BURR e FOSTER, 1972);
- c) Aditividade do modelo (TUKEY, 1949);
- d) Independência entre as observações.

4 Resultados e Discussão

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram apresentados em forma de tabelas e figuras, seguidos de suas respectivas discussões.

Tabela 1. Carbono da biomassa microbiana - valores médios de seis coletas (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração.

mg C/kg de solo seco							
	Coletas	1	2	3	4	5	6
	Datas	04/09/2001	03/10/2001	17/10/2001	07/11/2001	05/12/2001	16/01/2002
Tratamento							
PD¹	Rotação	1144,5A ²	376,0A	467,0A	465,3A	614,0A	623,7A
	Sucessão	1216,3A	361,5A	442,0A	412,3A	661,0A	497,0A
PC	Rotação	772,2A	198,0A	157,0A	101,0A	318,0A	510,2A
	Sucessão	850,2A	168,0A	136,5A	101,0A	213,7A	666,5A
C	Rotação	901,7A	288,0A	359,0A	302,3A	496,0A	740,5A
	Sucessão	851,5A	299,0A	368,5A	226,0A	517,7A	811,5A
Sistema de Manejo							
PD		1180,4A	368,7A	454,5A	438,8A	637,5A	560,4A
PC		811,2B	183,0B	146,7C	101,0B	265,9B	588,4A
C		876,6B	293,5AB	363,7B	264,2AB	506,9A	776,0A
Sistema de Cultura							
Rotação		939,5A	287,3A	327,7A	289,6A	476,0A	624,8A
Sucessão		972,7A	276,2A	315,7A	246,4A	464,2A	658,3A

¹ PD: plantio direto; PC: plantio convencional; C: cruzador.

² Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Para o C da biomassa microbiana, avaliado pelo método da fumigação-extração (Tabela 1), não houve diferença significativa para os valores da interação sistemas de manejo e sistemas de cultura nas seis épocas de coleta (Figuras 4 e 5).

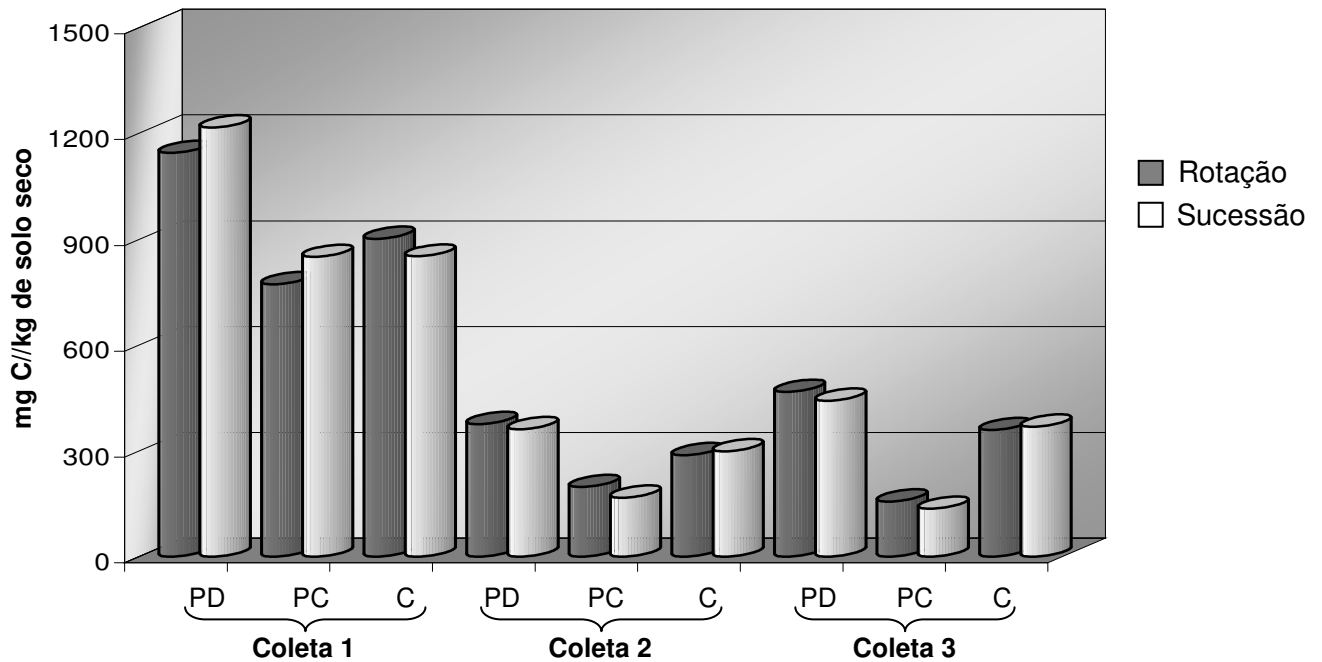


Figura 4: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas coletas 1, 2 e 3.

Entre os sistemas de manejo, houve diferenças nas cinco primeiras coletas, sendo que os maiores valores de carbono da biomassa microbiana foram observados na coleta 1, quando já havia sido feita a colheita da safra de inverno. Isto se deve, possivelmente, à grande quantidade de resíduos vegetais (restos da cultura) disponível após a colheita. Estes valores voltaram a crescer na coleta 6, onde não houve diferenças estatísticas, quando as culturas estavam em florescimento (Figura 6).

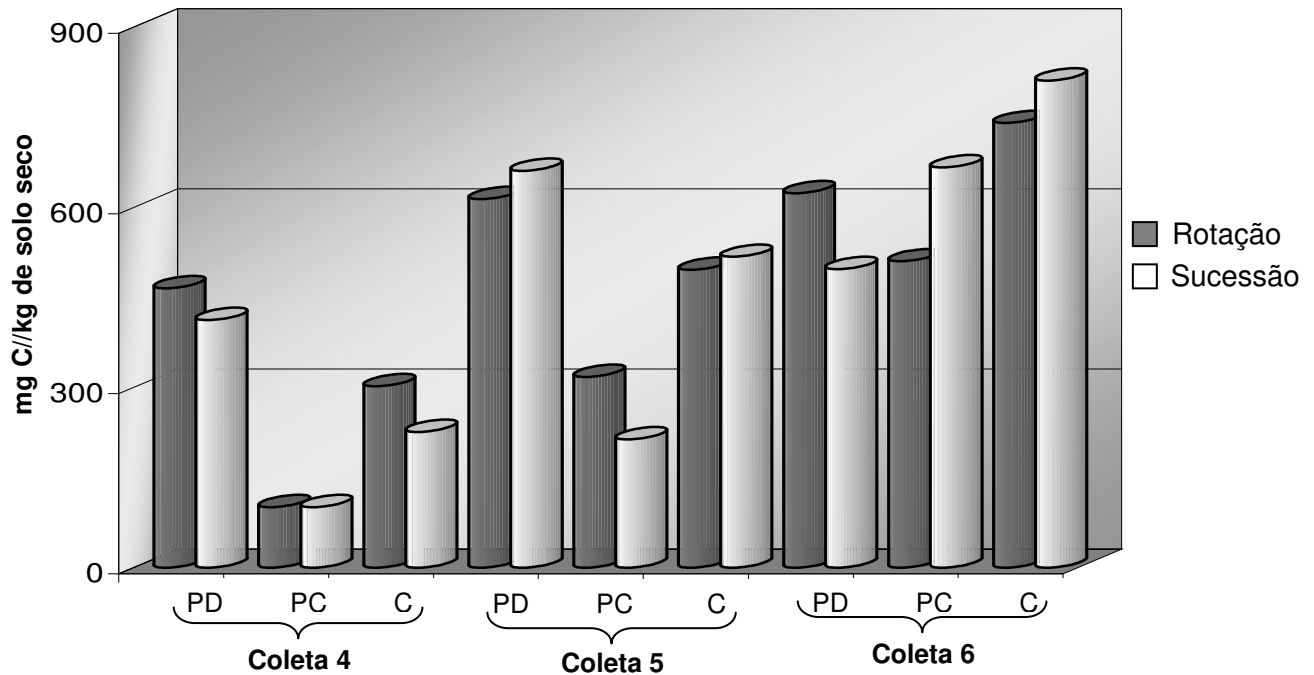


Figura 5: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas coletas 4, 5 e 6.

Na primeira coleta o plantio direto chegou a ser cerca de 45% e 35% maior que o plantio convencional e o cruzador, respectivamente, o que provavelmente ocorreu pelo maior acúmulo de resíduos vegetais da coleta de inverno, que estavam em decomposição no solo.

Provavelmente por restar maior volume das culturas colhidas. O cruzador chegou a apresentar maior valor em relação ao plantio direto apenas na sexta coleta, apesar de não ser significativa a diferença. Nas demais coletas, o plantio direto foi maior em relação aos outros sistemas, embora não diferindo estatisticamente do cruzador nas coletas 4, 5 e 6.

O plantio convencional não apresentou diferença em relação ao plantio direto, apenas na Coleta-coleta 6, sendo, inclusive, um pouco maior que este. Nas demais coletas, apresentou diferenças significativas, provavelmente deve-se principalmente pela menor disponibilidade de restos de culturas. Observado-Isso fica evidenciado principalmente quando se compara-se as coletas 2 e a 3, onde, após a aração, o convencional diminui, pois, o pouco material disponível, foi incorporado, sendo rapidamente decomposto, já ~~o~~ enquanto no plantio direto aumentou, devido a manutenção da cobertura vegetal.

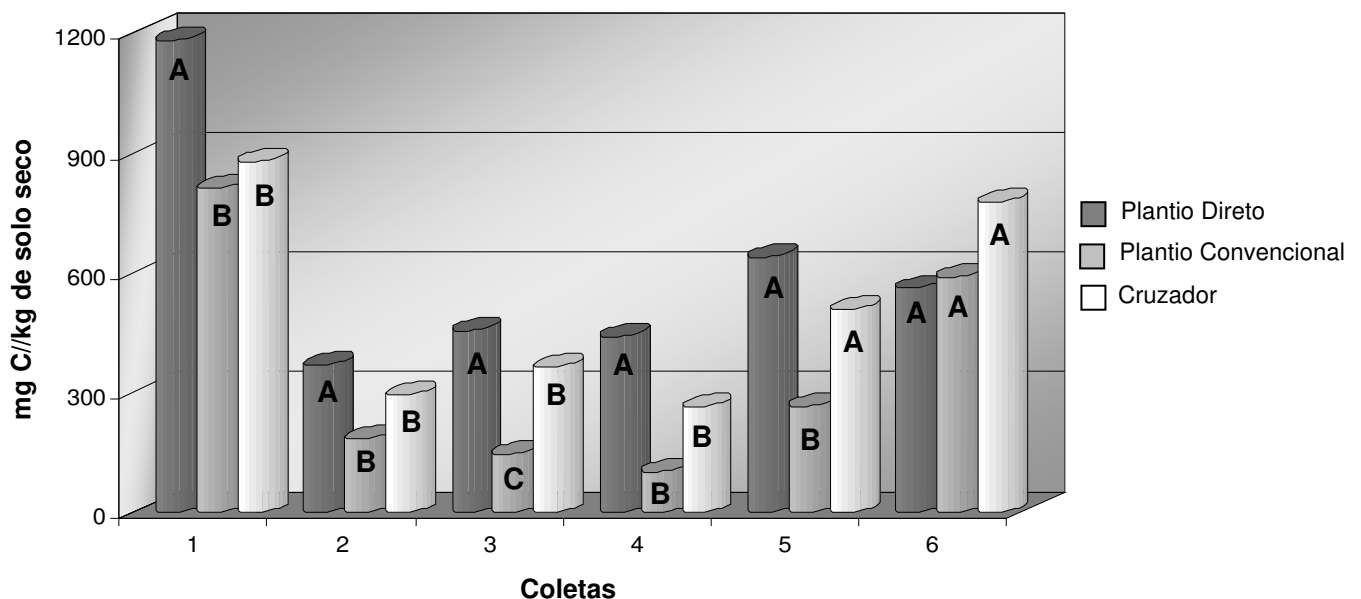


Figura 6: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).

Em uma mesma coleta, não houve diferenças significativas entre os sistemas de rotação e sucessão. MasContudo, observa-se que os maiores valores foram na primeira coleta, após colheita de inverno e, também, na sexta coleta, quando as culturas já estavam mais estabilizadas estavam em florescimento, liberando maior quantidade de exsudatos. Inclusive nestas Nessas duas coletas, inclusive, foi onde a sucessão mostrou-se pouco maior que a rotação (Figura 7).

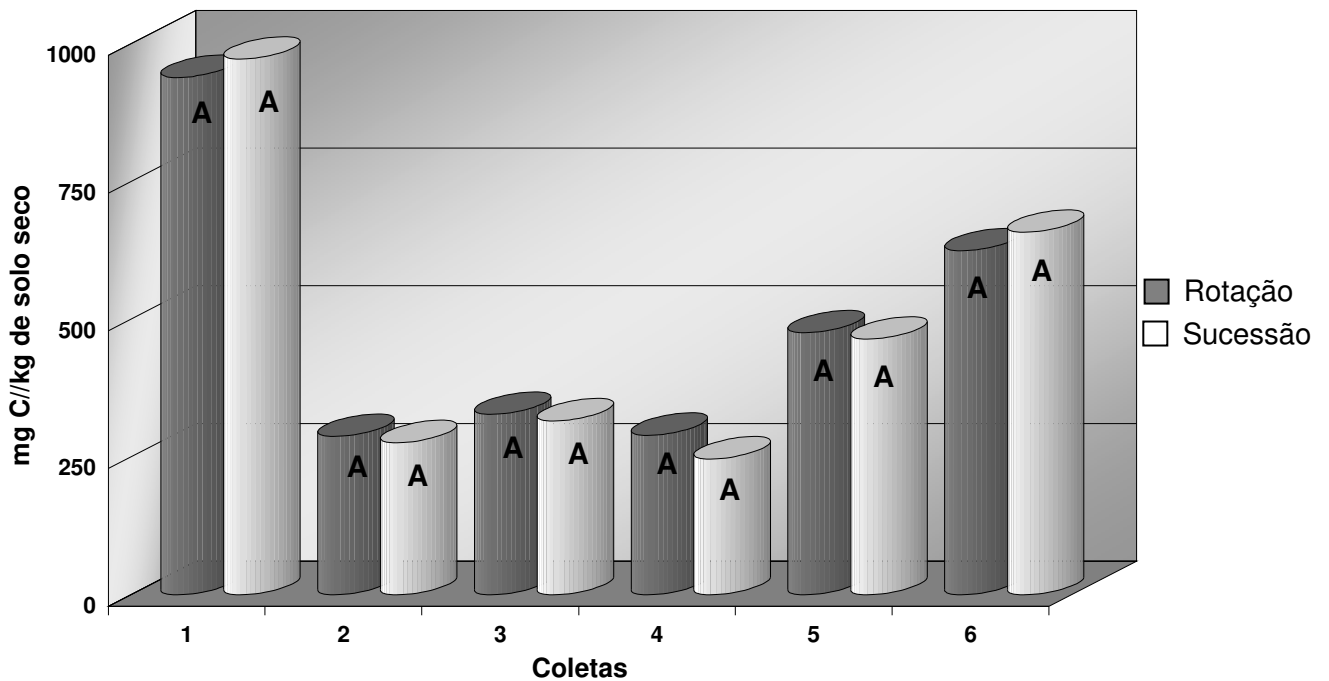


Figura 7: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).

Alguns autores mostram que a biomassa microbiana é muito sensível às alterações nas formas de carbono orgânico do solo, em razão das mudanças no manejo ou uso do solo (CARTER, 1986; POWLSON et al., 1987). Após a alteração a introdução de práticas que alterem o solo, como ocorre em algumas operações de preparo do solo ser introduzida, a biomassa microbiana sofre flutuações, até alcançando um novo equilíbrio.

Nas coletas 5 e 6, os exsudatos das plantas colaboraram para que houvesse um incremento nos valores de biomassa de carbono, que são bem superiores aos da coleta 4, feita logo após o plantio, mostrando os menores valores. Para-Quanto ao efeito da rotação de culturas, os valores da coleta seis-última coleta foram 116% maiores que os da quarta coleta e, na sucessão, superiores em 167%, indicando estímulo pelas plantas em pleno florescimento.

maior.

É importante mencionar, ainda, que os ~~Teores~~ teores de C microbiano avaliados pelo método de fumigação-extração encontrados neste trabalho foram semelhantes ~~foram~~ aos observados por alguns autores (BALOTA et al., 1998; MARCHIORI JÚNIOR e MELO, 1999).

Tabela 2. Nitrogênio microbiano - valores médios de seis coletas (mg N/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração.

mg N/kg de solo seco							
Coletas		1	2	3	4	5	6
Datas		04/09/2001	03/10/2001	17/10/2001	07/11/2001	05/12/2001	16/01/2002
Tratamento							
PD¹	Rotação	84,5A ²	101,5A	46,5A	113,3A	72,0B	104,2A
	Sucessão	113,2A	95,2A	51,7A	92,7A	96,7A	93,0A
PC	Rotação	45,7A	45,5A	17,2A	14,3A	32,0D	46,0A
	Sucessão	65,7A	50,0A	16,2A	26,3A	35,0D	44,7A
C	Rotação	68,5A	75,5A	39,2A	73,3A	53,7C	88,7A
	Sucessão	98,7A	79,2A	40,7A	45,0A	69,0BC	91,0A
Sistema de Manejo							
PD		98,9A	98,4A	49,1A	103,0A	84,4A	98,6A
PC		55,7B	47,7C	16,7C	20,3C	33,5C	45,4B
C		83,6A	77,4B	40,0B	59,2B	60,3B	89,8A
Sistema de Cultura							
Rotação		66,2B	74,2A	34,3A	67,0A	52,6B	79,7A
Sucessão		92,6A	74,8A	36,2A	54,7A	66,7A	76,2A

¹ PD: plantio direto; PC: plantio convencional; C: cruzador.

² Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

~~Apesar~~ Em relação ao N microbiano do solo, também avaliado pelo método de fumigação-extração (Tabela 2), ~~apesar de não se observarem terem sido constatadas~~ diferenças significativas na interação entre os sistemas de manejo e os sistemas de culturas, ~~perecebemos percebe-se que os maiores~~ valores do N microbiano no plantio direto foram superiores aos encontrados em ~~comparação com os~~ outros sistemas, sendo o maior valor obtido no sistema de rotação na quarta coleta (113, 3). O cruzador também possui valores expressivos. Isto pode indicar uma tendência de maior capacidade de imobilização nesses sistemas (Figuras 8 e 9).

~~As menores quantidades~~ Os menores valores de biomassa de N foram constatados ~~estão presentes do no~~ plantio convencional, sendo a menor observada também na coleta 4, em rotação (14,3), ~~sendo apresentando~~ aproximadamente ~~692690%~~ ~~diferença para a de~~ diferença para a maior biomassa do plantio direto.

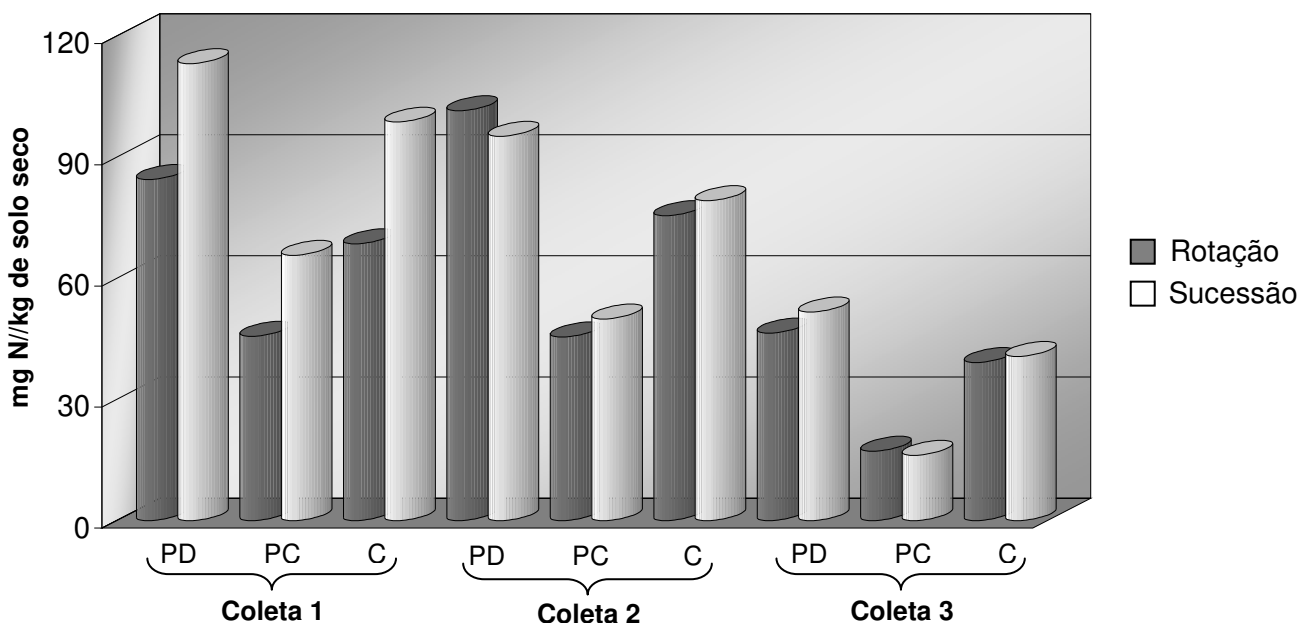


Figura 8: Valores médios de nitrogênio microbiano (mg N/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas coletas 1, 2 e 3.

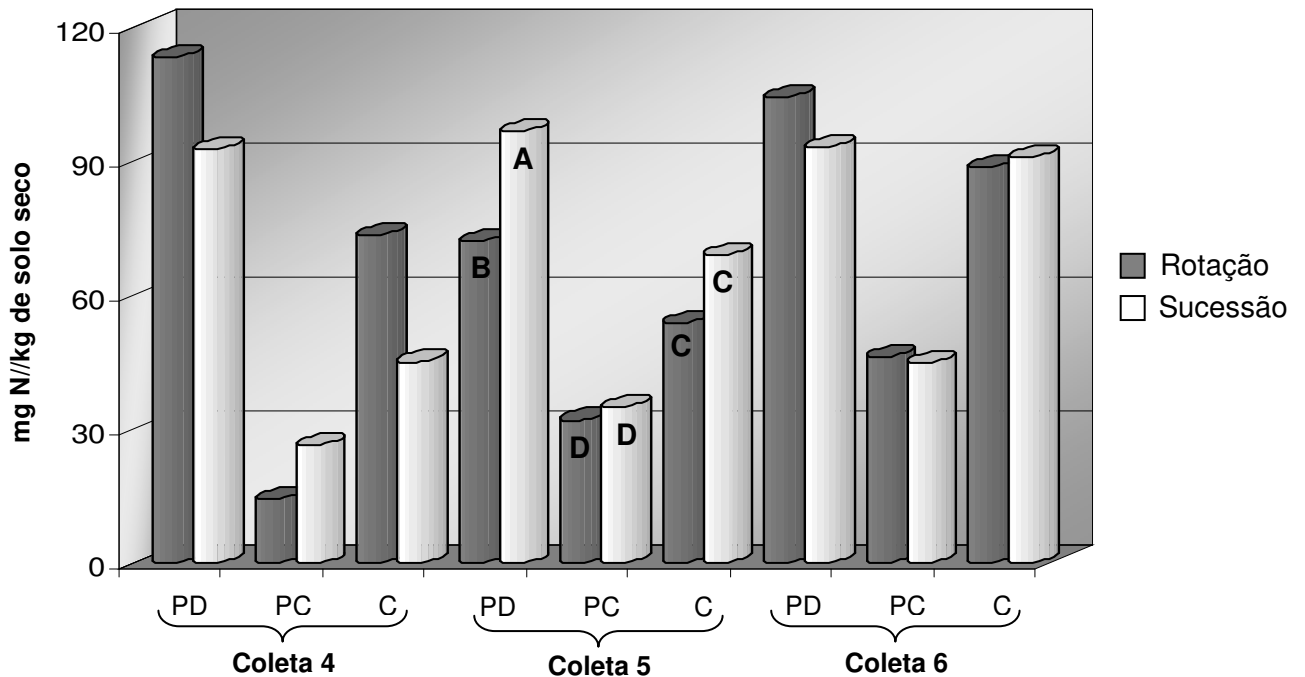


Figura 9: Valores médios da variável nitrogênio microbiano (mg N/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas coletas 4, 5 e 6 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante).

Analisando-se os sistemas de manejo, os maiores valores observados ficam evidentes no plantio direto. Este sistema só não difere completamente do cruzador em duas coletas (a primeira e a última). O plantio convencional difere dos outros manejos em todas as coletas, apresentando os menores valores. Segundo FOLLET e SCHIMEL (1989), o decréscimo da capacidade de imobilizar e conservar o N_2 é resultado do aumento da mobilização do solo, ocasionando perdas por lixiviação (Figura 10).

O maior aumento é foi observado em plantio direto, logo após o plantio, na quarta coleta, tendo uma diferença de 517% para o menor valor (coleta 3) do plantio convencional. Este menor valor pode ser explicado por ser logo após a aração; e₂ na coleta 4, ~~baixo valor~~ baixos valores foram constatados após passar a semeadeira (plantio). Mais uma vez, Desse modo, foi demonstrada, mais uma vez, mostrando a interferência o efeito imediato dos

implementos agrícola da na biomassa microbiana do solo e conseqüente mobilização de solo de nutrientes. Para o cruzador, estas duas coletas também revelam os valores mais baixos 40,0 na terceira e 59,2 na quarta.

Os altos valores de nitrogênio microbiano no plantio direto devem-se ao menor revolvimento do solo, que mantém à superfície resíduos vegetais, com aumento da disponibilidade de substratos nos primeiros centímetros do solo, possibilitando maior concentração de nutrientes e energia para uso da biomassa microbiana (SALINAS-GARCIA et al., 1997). Segundo DORAN (1980), este sistema apresenta, ainda, maior necessidade de adubação nitrogenada devido ao seu maior potencial de desnitrificação. No caso da soja brasileira, porém, capaz de suprir completamente suas necessidades em N pelo processo de fixação biológica, não ocorre resposta da cultura ao N mineral (MENDES et al., 2003).

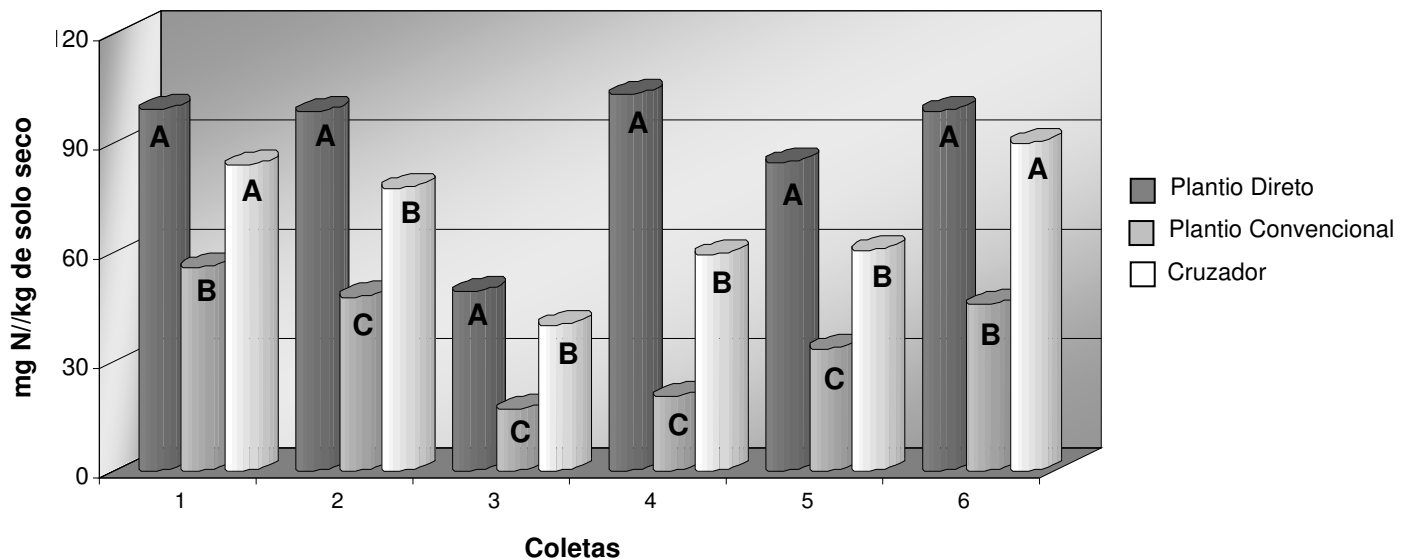


Figura 10: Valores médios de nitrogênio microbiano (mg N/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).

Entre os sistemas de rotação e sucessão não houve diferenças significativas (Figura 11).

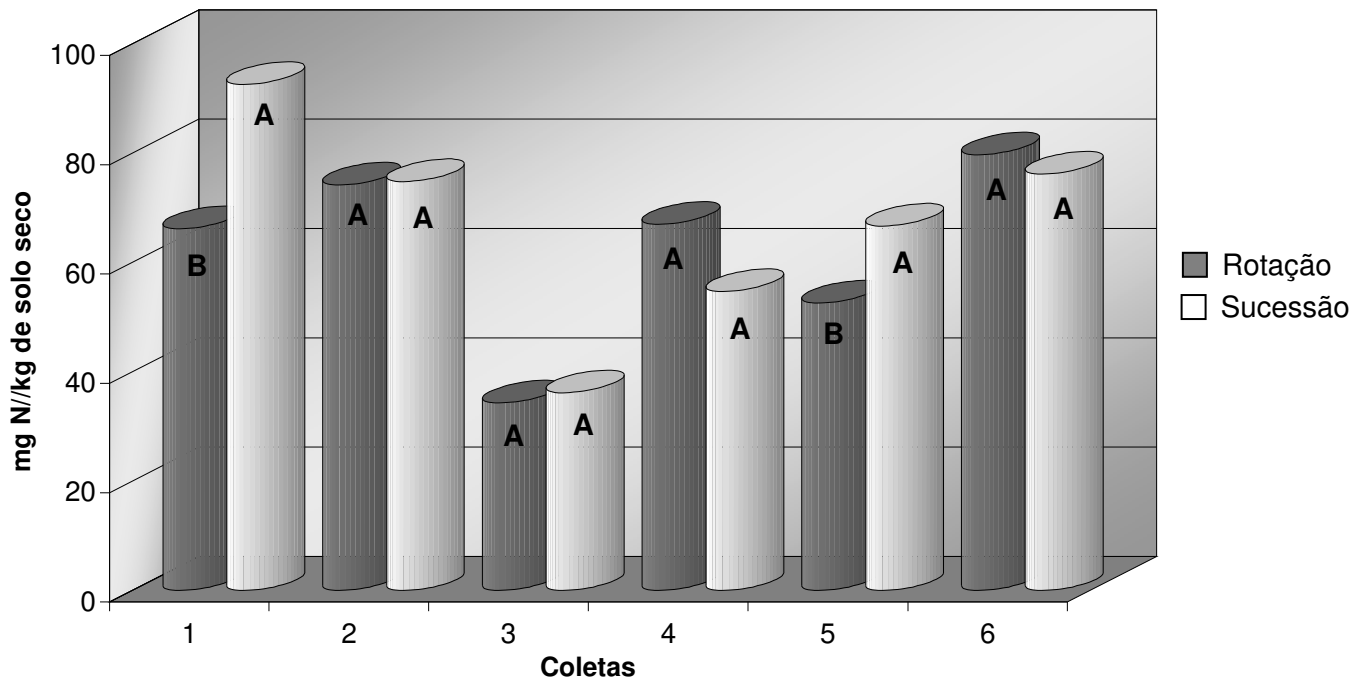


Figura 11: Valores médios de nitrogênio microbiano (mg N/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-extração nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).

Os valores do N microbiano aqui apresentados, ~~estão na mesma faixa~~ ~~ascompativeis~~ aos anteriormente apresentados por outros autores, ~~em outras condições~~ (FOLLET e SCHIMEL, 1989; INSAM, 1990; INSAM et al., 1991; RODRIGUES et al., 1994; ALVAREZ, et al., 1995; BALOTA et al., 1998).

Em relação à biomassa microbiana de C, avaliada pelo método de fumigação-incubação (Tabela 3), Na-na terceira coleta houve diferença significativa entre a interação sistemas de manejo e sistemas de cultura.

Tabela 3. Carbono da biomassa microbiana - valores médios de seis coletas (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-incubação.

		mg C/kg de solo seco					
	Coletas	1	2	3	4	5	6
	Datas	04/09/2001	03/10/2001	17/10/2001	07/11/2001	05/12/2001	16/01/2002
Tratamento							
PD¹	Rotação	839,2A ²	658,0A	869,7A	438,2A	476,7A	542,0A
	Sucessão	759,2A	547,7A	501,7B	480,2A	590,2A	450,7A
PC	Rotação	417,0A	286,0A	127,7C	197,7A	308,2A	352,0A
	Sucessão	372,2A	293,7A	190,5C	239,7A	249,5A	428,0A
C	Rotação	686,0A	392,0A	551,0B	532,5A	335,7A	456,5A
	Sucessão	565,5A	413,7A	623,0AB	509,2A	499,0A	465,2A
Sistema de Manejo							
PD		799,2A	602,9A	685,7A	459,2A	533,5A	496,4A
PC		394,6C	289,9C	159,1B	218,7B	278,9B	390,9A
C		625,7B	402,9B	587,0A	520,9A	417,4AB	460,9A
Sistema de Cultura							
Rotação		647,4A	445,3A	516,2A	389,5A	373,6A	450,2A
Sucessão		565,7B	418,4A	438,4A	409,7A	446,2A	448,0A

¹ PD: plantio direto; PC: plantio convencional; C: cruzador.

² Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O plantio convencional apresentou os menores valores, possivelmente por não possuir uma camada de cobertura de palha tão grande quanto a do plantio direto, por exemplo, e ainda por que a coleta foi realizada se logo após a aração. Mais, confirmando resultados encontrados em outros estudos uma vez sendo explicado pelo já citado por alguns autores (CARTER, 1986; POWLSON, et al., 1987).

Nesta coleta, ainda, foram observados os maiores valores para o plantio direto (rotação) e do cruzador (sucessão). Na rotação, o plantio direto foi 581% e 58% superior a à rotação do plantio convencional e do cruzador, respectivamente (Figuras 12 e 13).

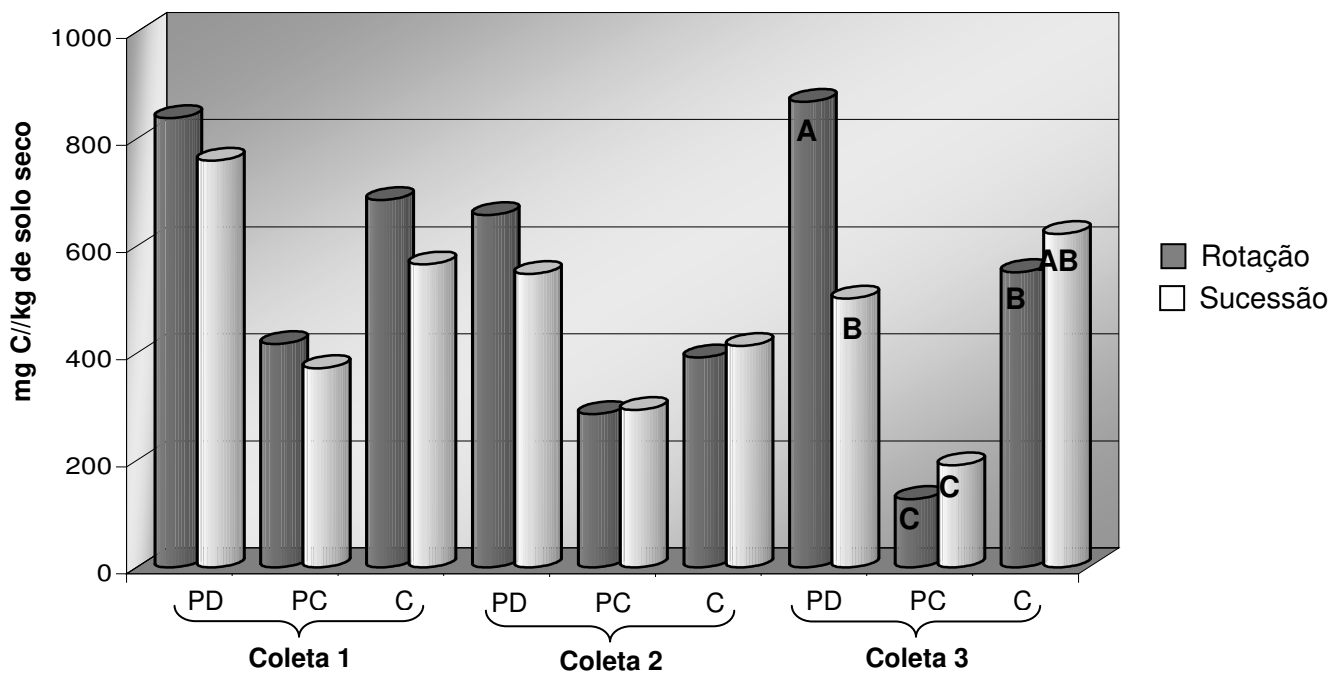


Figura 12: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 1, 2 e 3 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).

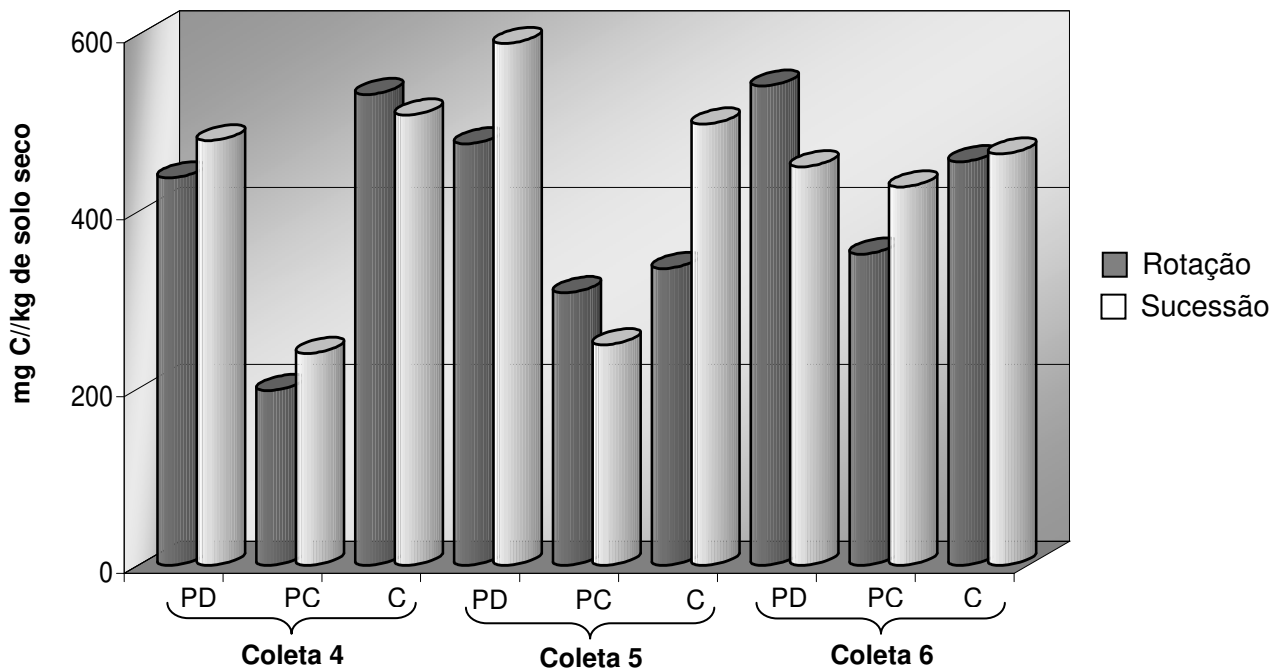


Figura 13: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 4, 5 e 6.

Entre os sistemas de manejo, somente na sexta coleta não ~~houve~~ foram constatadas diferenças, ~~entre eles~~ ~~P~~possivelmente por já estarem com as culturas em desenvolvimento e bem estabelecidas. Mas, nas ~~outras demais~~ coletas, observaram-se diferenças, sendo sempre o plantio convencional o que apresenta os menores valores (Figura 14).

Na coleta 1, os três sistemas apresentaram seus maiores valores, pois ainda restava muita palha das culturas anteriores, após a colheita. O plantio direto foi 102% maior que o plantio convencional e superior em 28% aos teores apresentados pelo cruzador. Plantio direto e cruzador apresentaram diferenças significativas apenas nesta primeira coleta e na segunda, onde o plantio direto teve valor cerca de 50% superior.

No plantio direto a diferença entre a primeira coleta (maior teor) e a quarta (menor teor) foi de 74%. Possivelmente isso ocorreu pela primeira ter muitos restos de culturas, pois foi logo após a colheita e a coleta 4 foi logo após o plantio, muito já quando grande parte dos restos culturais já havia sido ~~degradado~~ degradada.

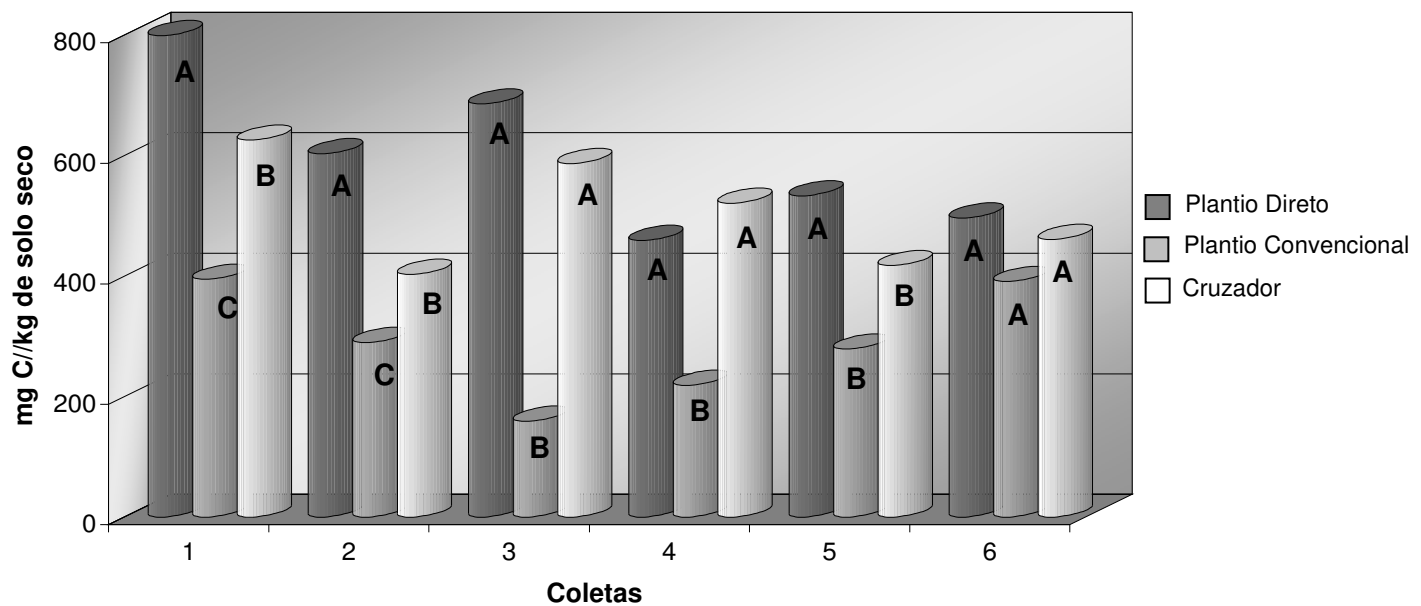


Figura 14: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).

Entre os sistemas de cultura, houve diferença significativa apenas na primeira coleta, apesar da rotação ser superior em apenas 14% à sucessão. No sistema de sucessão não se verificou-se grandes diferenças entre os teores da biomassa microbiana, talvez por estas flutuações temporais serem menores (SANTRUCKOVA, 1992), sugerindo que a dinâmica da biomassa microbiana estabiliza à medida que o ecossistema desenvolve (Figura 15).-

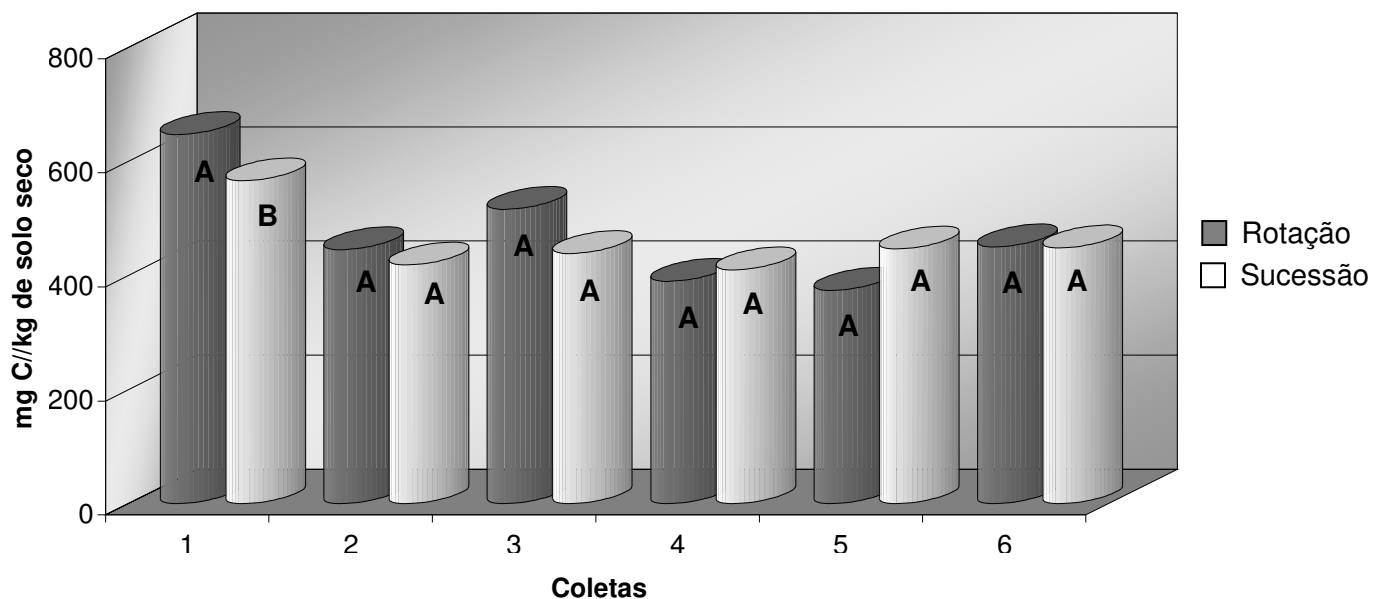


Figura 15: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante).

Tabela 4. Carbono da biomassa microbiana - valores médios de seis coletas (mg C/kg de solo seco), induzida pelo açúcar e obtidos pelo método da fumigação-incubação.

mgC/kg de solo seco							
Coletas		1	2	3	4	5	6
Datas		04/09/2001	03/10/2001	17/10/2001	07/11/2001	05/12/2001	16/01/2002
Tratamento							
PD¹	Rotação	1317,3A ²	1334,3A	1152,3A	1034,8A	1212,3A	1491,3AB
	Sucessão	1301,0A	1287,5A	1183,8A	1152,3A	1330,8A	1691,8A
PC	Rotação	1344,0A	1300,5A	1152,5A	1294,8A	1135,5A	1490,8AB
	Sucessão	1187,3A	1171,0A	1184,0A	1007,0A	1087,8A	1241,3B
C	Rotação	1356,5A	1232,5A	1311,8A	1217,8A	1162,0A	1638,8A
	Sucessão	1392,5A	1230,5A	1259,5A	1143,0A	1264,3A	1697,8A
Sistema de Manejo							
PD		1310,3AB	1310,9A	1168,0A	1093,5A	1271,5A	1605,9A
PC		1265,6B	1235,7A	1168,2A	1150,9A	1111,6A	1366,0B
C		1374,5A	1231,5A	1285,6A	1185,7A	1213,1A	1668,2A
Sistema de Cultura							
Rotação		1339,2A	1289,1A	1205,5A	1182,4A	1169,9A	1544,7A
Sucessão		1292,9A	1229,7A	1209,1A	1096,9A	1227,6A	1543,6A

¹ PD: plantio direto; PC: plantio convencional; C: cruzador.

² Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Para a biomassa-C induzida pelo açúcar, na interação do manejo com os sistemas de cultura, houve diferença significativa apenas na coleta 6. O maior teor apresentado foi no cruzador com sucessão de culturas e o menor na sucessão do plantio convencional, em uma diferença de, aproximadamente, 37% (Figuras 16 e 17).

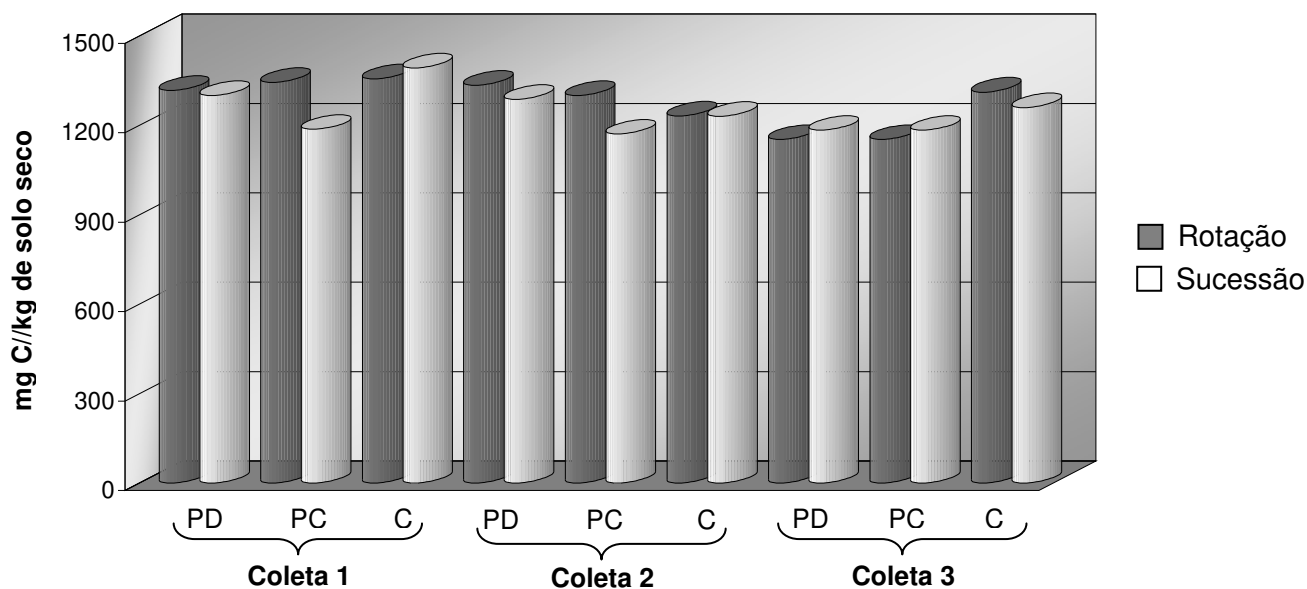


Figura 16: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), induzida pelo açúcar e obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 1, 2 e 3.

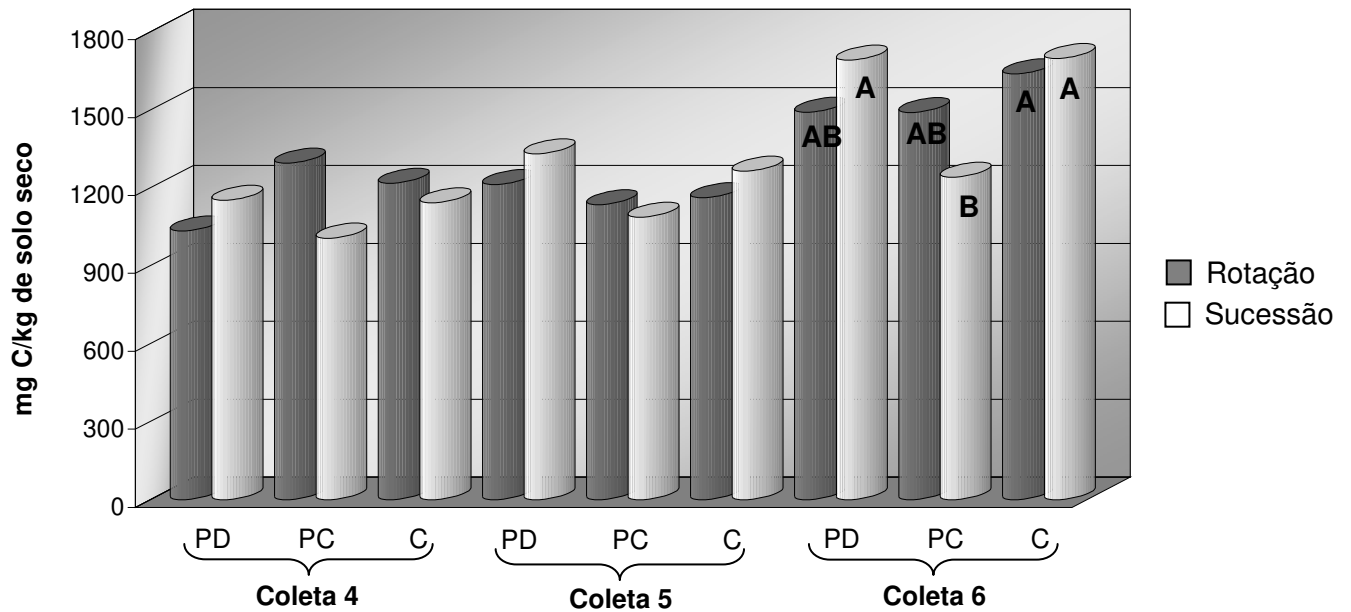


Figura 17: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), induzida pelo açúcar e obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 4, 5 e 6 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).

Todos os teores aqui apresentados são superiores aos apresentados na Tabela 3, pois o açúcar serviu como fonte de energia aos microrganismos, normalmente limitados por esse nutriente do solo. Para efeitos comparativos, considerando-se os valores obtidos na sexta coleta do tratamento com cruzador e sucessão de culturas, houve um incremento de 265% pela adição de açúcar. Esses dados indicam que a microbiota do solo estava limitada fortemente por fontes de C.

Entre os sistemas de manejo, houve diferenças significativas apenas nas coletas 1 e 6. Sendo que na primeira coleta a diferença do convencional foi em torno de 3% e 9%, na sexta coleta 18% e 22%, para o plantio direto e o uso de cruzador, respectivamente (Figura 18).

O plantio direto da coleta seis foi superior ao da quarta coleta em cerca de 47%, possivelmente pela influência das plantas já estabelecidas na sexta, enquanto que, na quarta, realizada após o plantio, os restos da cultura anterior já estavam mais degradados. Esta superioridade verifica-se, também, para o plantio convencional (19%), que apresentava ainda menos palha na época do plantio, bem como para o cruzador (41%).

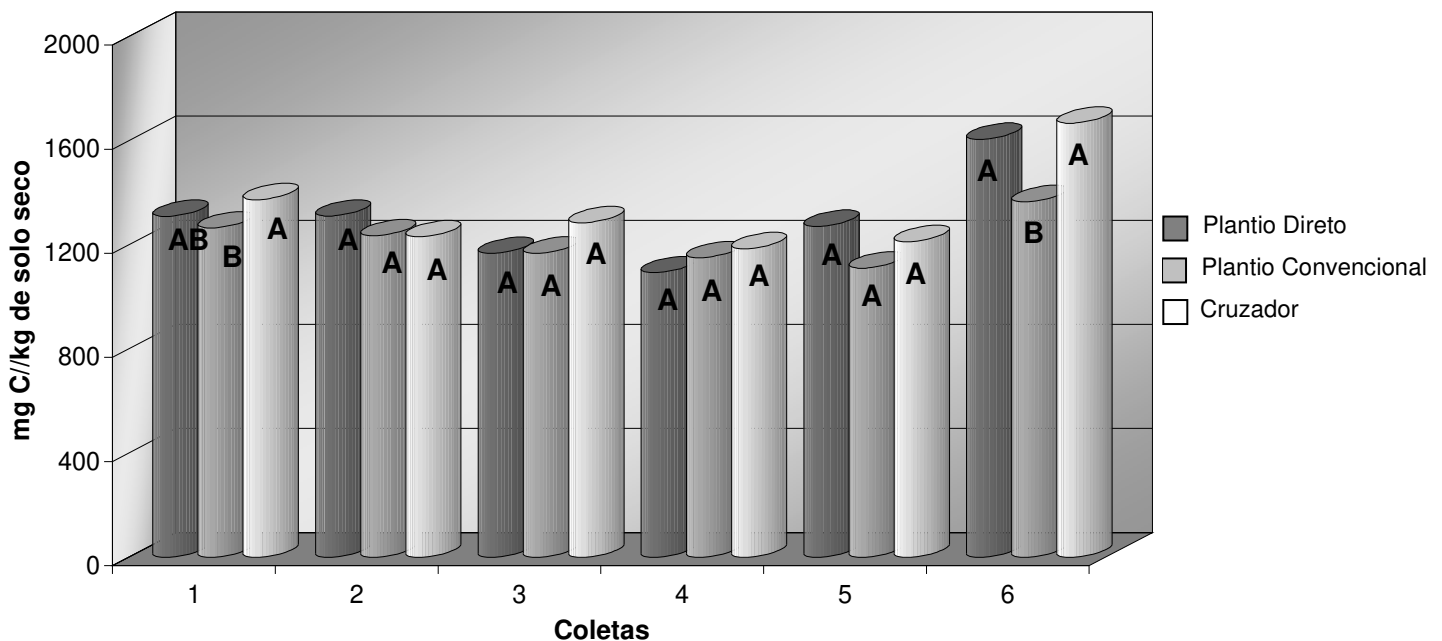


Figura 18: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), induzida pelo açúcar e obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante).

Para os sistemas de cultura, não houve diferenças significativas em todas as coletas, embora houvesse uma tendência da rotação apresentar teores mais elevados do que a sucessão em quatro (coletas: 1, 2, 4 e 6) das seis coletas (Figura 19).

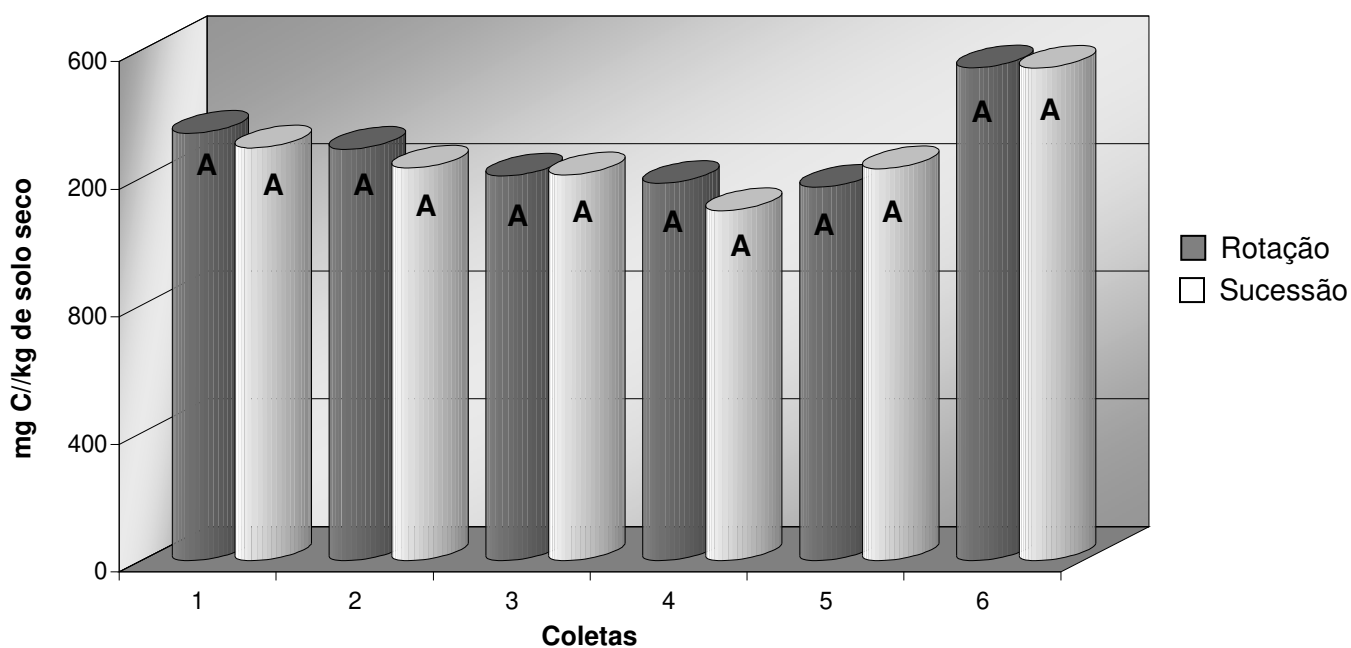


Figura 19: Valores médios de carbono da biomassa microbiana (mg C/kg de solo seco), induzida pelo açúcar e obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).

Tabela 5. Respiração basal - valores médios de seis coletas ($\text{mg C-CO}_2 \cdot 10 \text{ dias}^{-1}$), obtidos pelo método da fumigação-incubação.

$\text{mg C-CO}_2 \cdot 10 \text{ dias}^{-1}$							
Coletas		1	2	3	4	5	6
Datas		04/09/2001	03/10/2001	17/10/2001	07/11/2001	05/12/2001	16/01/2002
Tratamento							
PD ¹	Rotação	185,0A ²	209,2A	358,0AB	341,2A	162,5A	285,2A
	Sucessão	199,7A	213,0A	500,0A	351,0A	161,7A	318,2A
PC	Rotação	93,7A	151,7A	287,0B	157,0A	82,2A	175,0A
	Sucessão	125,2A	163,5A	263,0B	181,0A	153,2A	196,7A
C	Rotação	131,2A	191,0A	321,2B	274,2A	177,5A	273,2A
	Sucessão	147,7A	202,2A	366,0AB	244,2A	185,7A	288,5A
Sistema de Manejo							
PD		192,4A	211,1A	429,0A	346,1A	162,1AB	301,7A
PC		109,5B	157,6A	275,0B	169,0C	117,7B	185,9B
C		139,5AB	196,6A	340,4B	259,2B	181,6A	280,9A
Sistema de Cultura							
Rotação		136,7A	184,0A	322,1A	257,5A	140,7A	244,5A
Sucessão		157,6A	192,9A	377,3A	258,7A	167,3A	267,8A

¹ PD: plantio direto; PC: plantio convencional; C: cruzador.

² Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Em relação aos dados de respiração basal (Tabela 5), verificou-se diferença estatística apenas na coleta 3, em relação à interação sistema de manejo e sistema de cultura. Essa diferença foi, provavelmente, ocasionada pela aração do solo no plantio convencional, que mostrou os menores valores. O plantio direto com rotação foi o que apresentou teores mais elevado, sendo 36% superiores ao menor valor apresentado em plantio convencional com sucessão (Figuras 20 e 21).

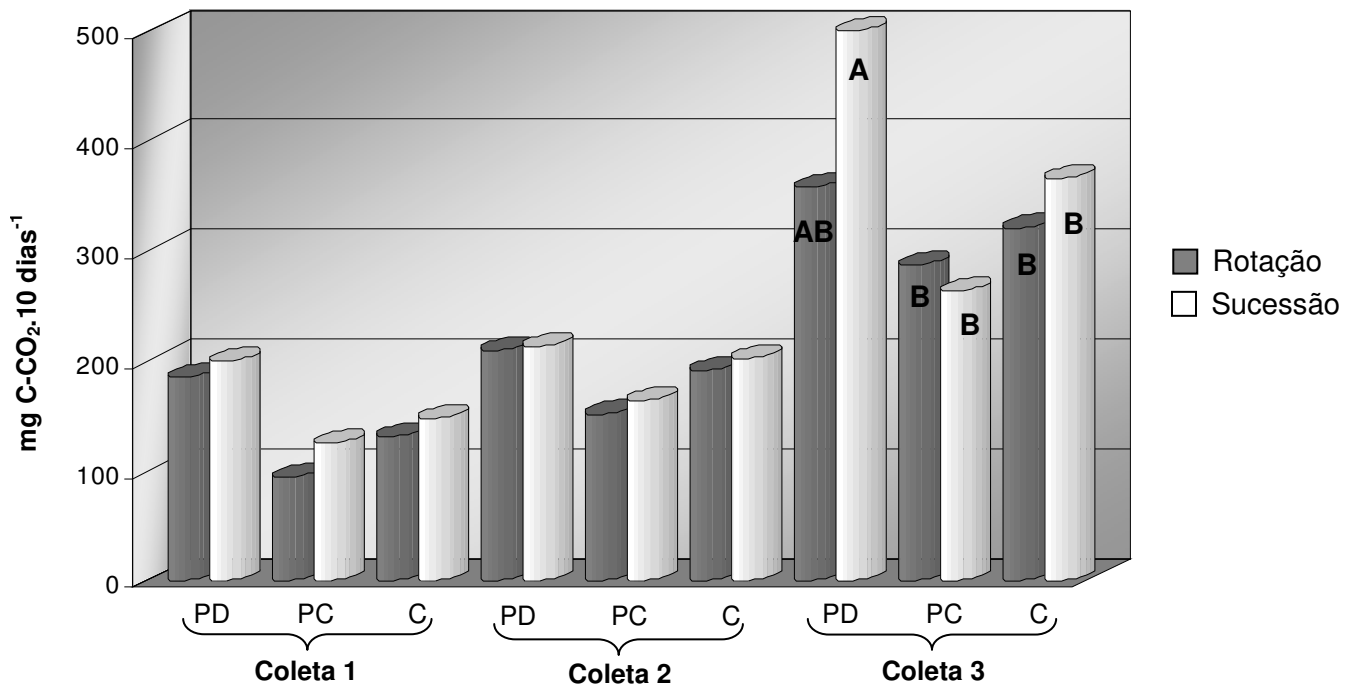


Figura 20: Valores médios de respiração basal (mg C-CO₂.10 dias⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 1, 2 e 3 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).

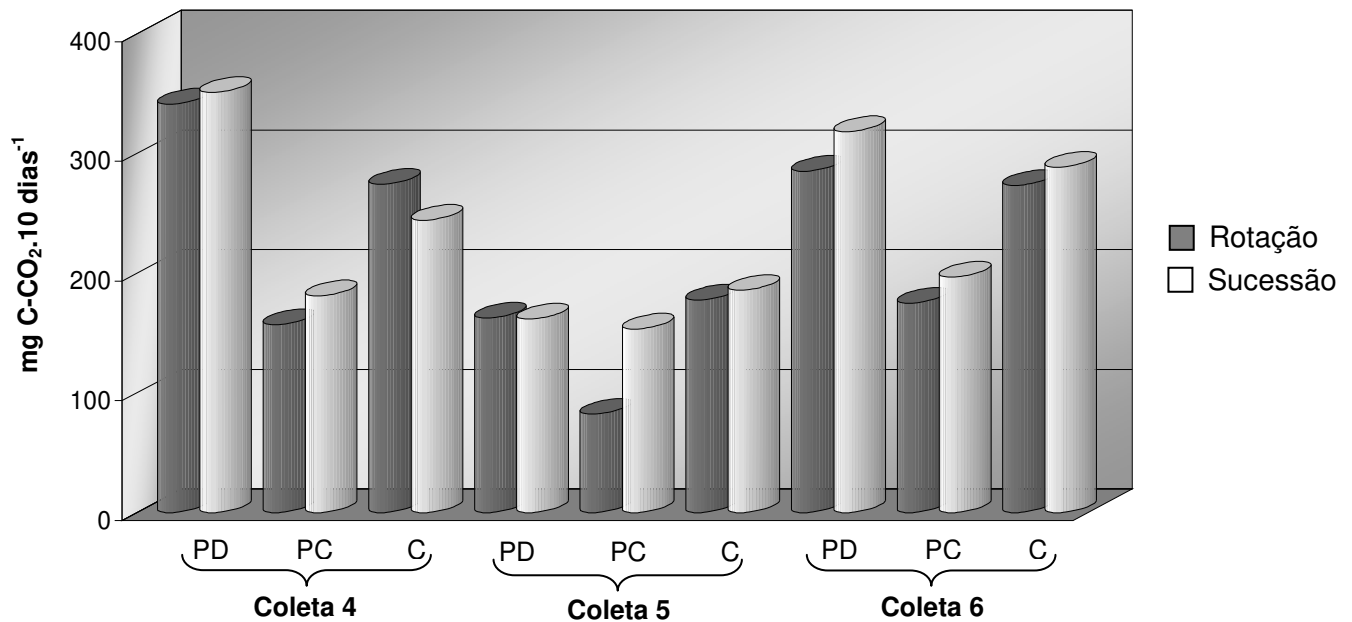


Figura 21: Valores médios de respiração basal (mg C-CO₂.10 dias⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 4, 5 e 6.

Apesar de, em algumas coletas, não haver diferença significativa entre os sistemas de manejo, os maiores níveis de respiração basal foram constatados no plantio direto. A menor respiração ocorreu no plantio convencional e, o tratamento com cruzador foi inferior ao plantio direto apenas na coleta 5, embora não diferindo estatisticamente. A maior diferença (105%) entre plantio direto e convencional foi verificada na quarta coleta, após o plantio, onde o convencional já havia sofrido uma aração (Figura 22).

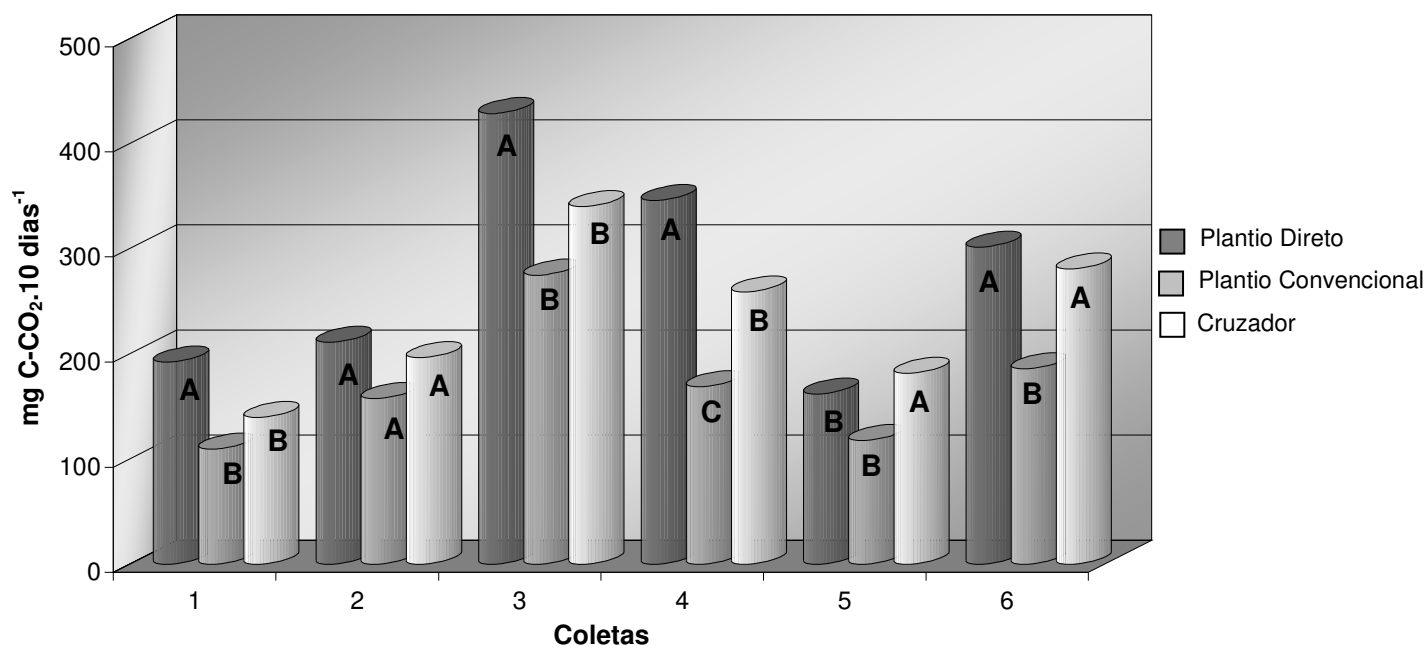


Figura 22: Valores médios de respiração basal ($\text{mg C-CO}_2 \cdot 10 \text{ dias}^{-1}$), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).

Comparando-se os sistemas de cultura, verifica-se que, apesar de não haver diferença estatística, a sucessão mostrou valores maiores que a rotação. Os maiores valores foram verificados na coleta 3 (Figura 23).

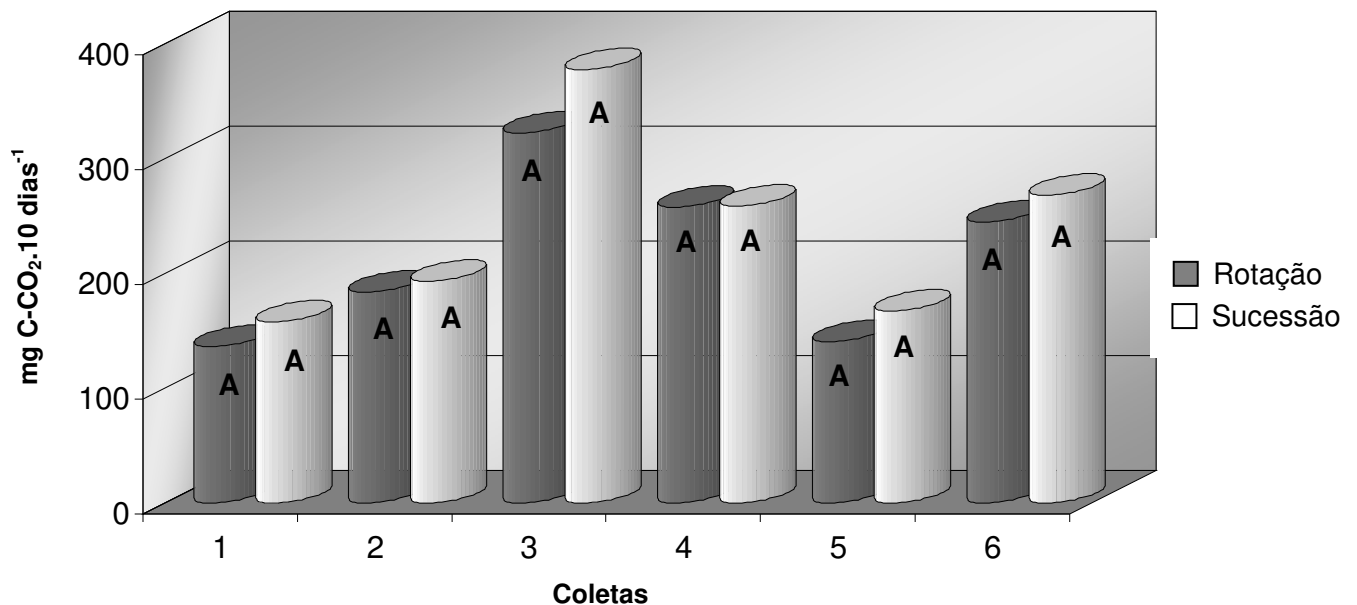


Figura 23: Valores médios de respiração basal ($\text{mg C-CO}_2.10 \text{ dias}^{-1}$), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante).

Pela literatura observa-se que os valores de respiração basal são bastante variados, considerando-se a grande variabilidade de solo e clima, bem como as condições metodológicas (INSAM et al., 1991; RODRIGUES et al., 1994; ALVAREZ, et al., 1995).

A maior liberação de CO_2 , observada em parcelas sob plantio direto, quando comparadas ao plantio convencional, confirma a maior atividade biológica do primeiro (CARTER, 1986; FOLLET e SCHIMEL, 1989) que, por sua vez, está relacionada diretamente com o C do solo e, ou, da biomassa microbiana (HENDRIX et al., 1988). Os dados encontrados neste estudo confirmam relatos de alguns autores, que constatarem incrementos expressivos comparando o plantio direto a sistemas tradicionais de preparo do solo (FOLLET e SCHIMEL, 1989; ALVAREZ et al., 1995). Segundo FOLLET e SCHIMEL (1989), este incremento foi de 108%, para ALVAREZ et al. (1995), houve 220% de aumento.

Tabela 6. Quociente metabólico (q) - valores médios de seis coletas (mg C-CO₂.mg C microbiano⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação.

q - mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹							
Coletas		1	2	3	4	5	6
Datas		04/09/2001	03/10/2001	17/10/2001	07/11/2001	05/12/2001	16/01/2002
Tratamento							
PD¹	Rotação	0,24A ²	0,33A	0,41A	0,88A	0,43A	0,53A
	Sucessão	0,26A	0,48A	1,04A	0,75A	0,38A	0,78A
PC	Rotação	0,23A	0,42A	1,25A	0,94A	0,31A	0,54A
	Sucessão	0,24A	0,57A	1,18A	1,00A	0,66A	0,44A
C	Rotação	0,19A	0,52A	0,60A	0,53A	0,60A	0,43A
	Sucessão	0,20A	0,53A	0,78A	0,50A	0,38A	0,65A
Sistema de Manejo							
PD		0,25A	0,40A	0,72A	0,81A	0,40A	0,66A
PC		0,23A	0,50A	1,21A	0,97A	0,48A	0,50A
C		0,19A	0,52A	0,69A	0,51A	0,49A	0,56A
Sistema de Cultura							
Rotação		0,22A	0,42A	0,65A	0,78A	0,45A	0,51A
Sucessão		0,23A	0,52A	0,98A	0,75A	0,47A	0,64A

¹ PD: plantio direto; PC: plantio convencional; C: cruzador.

² Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Quando a variável de quociente metabólico foi considerada (Tabela 6), apesar de não haver diferenças significativas nos valores apresentados, verificou-se que os maiores valores foram constatados na coleta 3, onde o plantio convencional foi 68% e 75% superior ao plantio direto e cruzador, respectivamente. Isto pode ser creditado ao fato da terceira coleta ter sido feita logo após a aração, mostrando uma diminuição da eficiência metabólica após esta prática agrícola. A quociente foi menor no plantio direto, indicando que a microbiota do solo sob esse tratamento foi menos eficiente na conversão dos C dos restos culturais em biomassa microbiana, havendo menor perda sob a forma de CO_2 (Figuras 24 e 25).

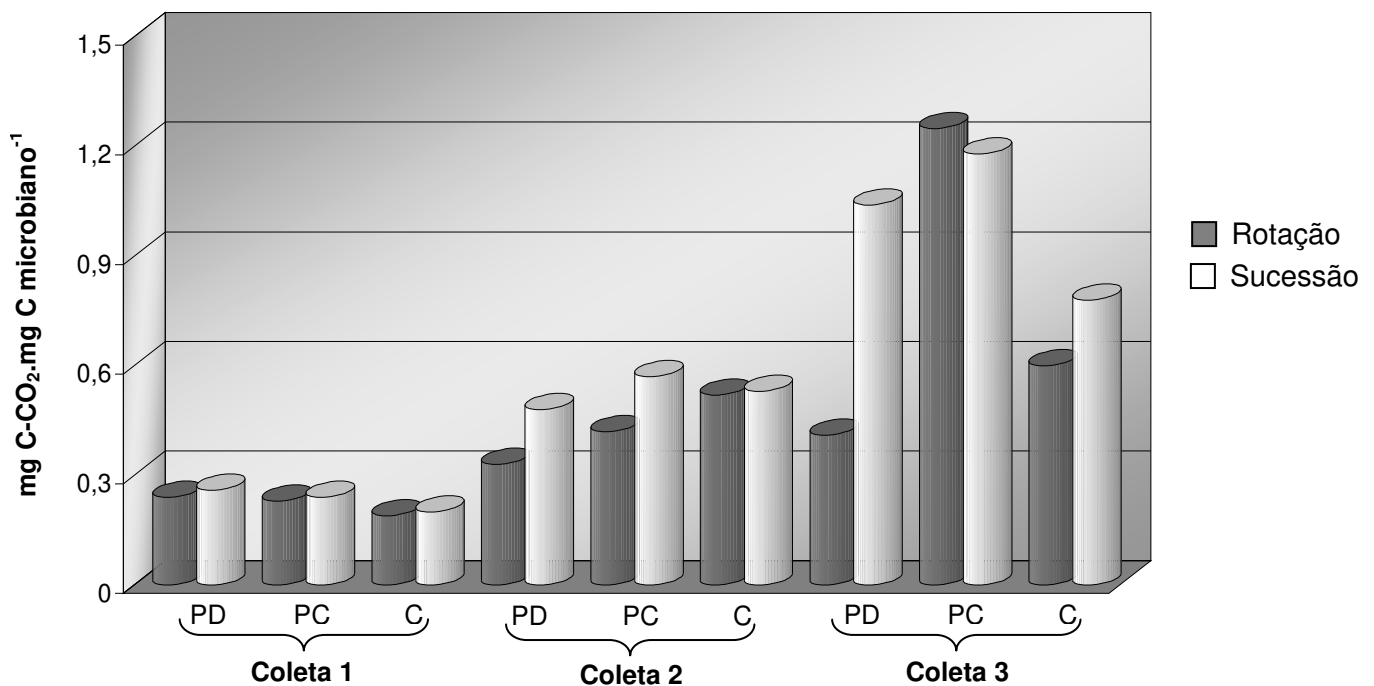


Figura 24: Valores médios de quociente metabólico (mg C-CO₂.mg C microbiano⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 1, 2 e 3.

Também se observou que o quociente metabólico no plantio convencional foi mais elevado na quarta coleta, após mais uma prática agrícola, a passagem da semeadeira. De modo geral, o plantio direto apresenta menor quociente metabólico que o plantio convencional, observado também por BALOTA et al. (1998).

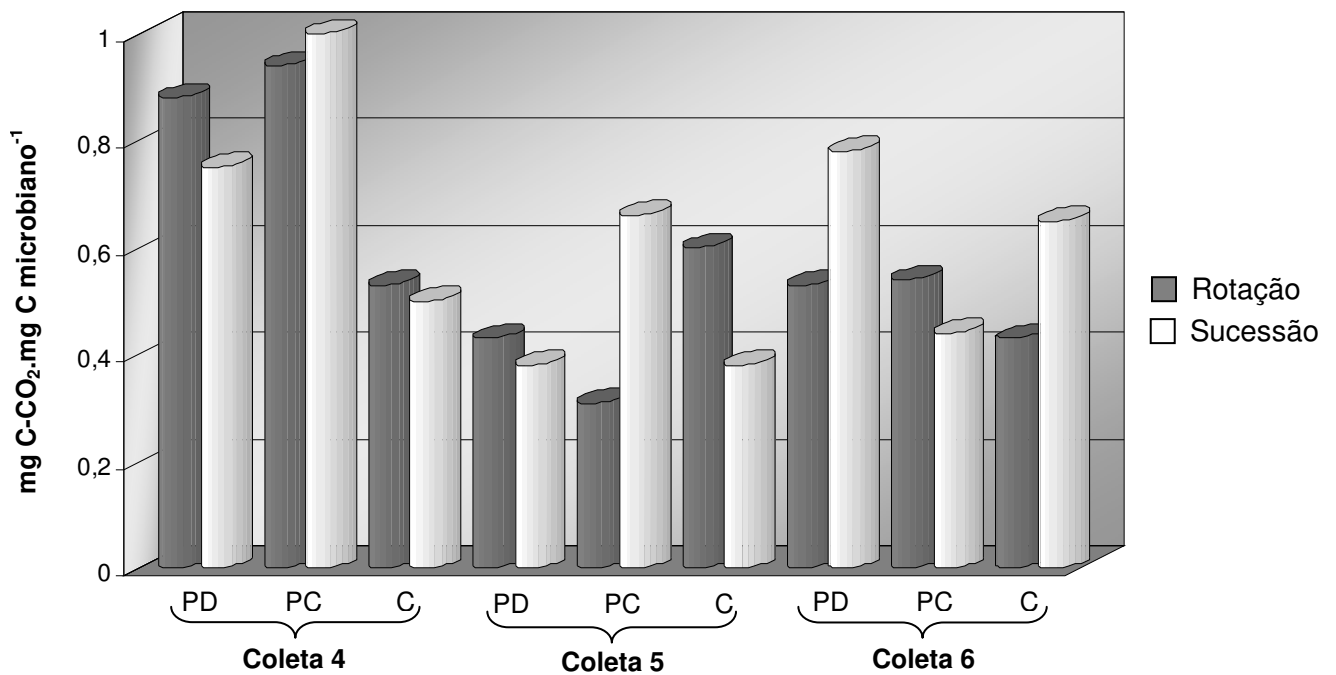


Figura 25: Valores médios de quociente metabólico (mg C-CO₂.mg C microbiano⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 4, 5 e 6.

Em experimentos submetidos ao mesmo tratamento por 77 anos, INSAM et al. (1991), verificaram que tanto o preparo como o manejo do solo, alteram o quociente metabólico. As parcelas que apresentaram maior quociente metabólico, foram as que receberam quantidade de fertilizantes reduzida ou limitada, comparadas às que receberam quantidade adequada.

Segundo SAFFIGNA et al. (1989), solos com plantio convencional podem apresentar menor conteúdo de matéria orgânica e uma biomassa microbiana com maior quociente metabólico que aquelas sob plantio direto. Isto pode ocorrer pela diferença de acessibilidade do substrato de C aos microrganismos e/ou, mudanças nos padrões metabólicos ou, ainda, alterações na composição da microbiota (ALVAREZ et al., 1995). Contudo, os resultados encontrados neste trabalho indicam, que no solo do Estado do Paraná, a eficiência metabólica foi inferior no plantio convencional.

O tipo de manejo do solo pode selecionar uma população microbiana mais eficiente que perderia menos C via respiração, pois se mais C é respirado, maior quantidade de C pode estar sendo liberado do solo, acarretando diminuição dos teores deste elemento no solo (INSAM et al., 1991). Essa característica da comunidade microbiana pode ser muito importante na manutenção dos teores de C do solo (INSAM, 1990).

Entre os sistemas de manejo e cultura não houve diferenças significativas (Figuras 26 e 27).

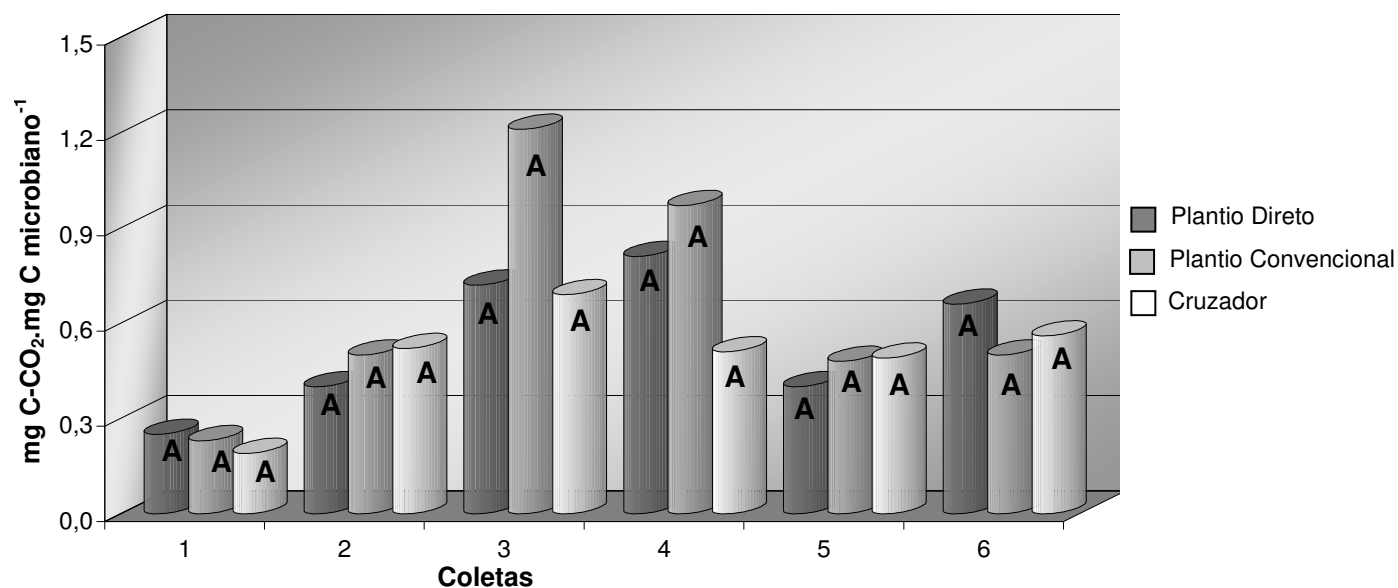


Figura 26: Valores médios de quociente metabólico ($\text{mg C-CO}_2.\text{mg C microbiano}^{-1}$), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante).

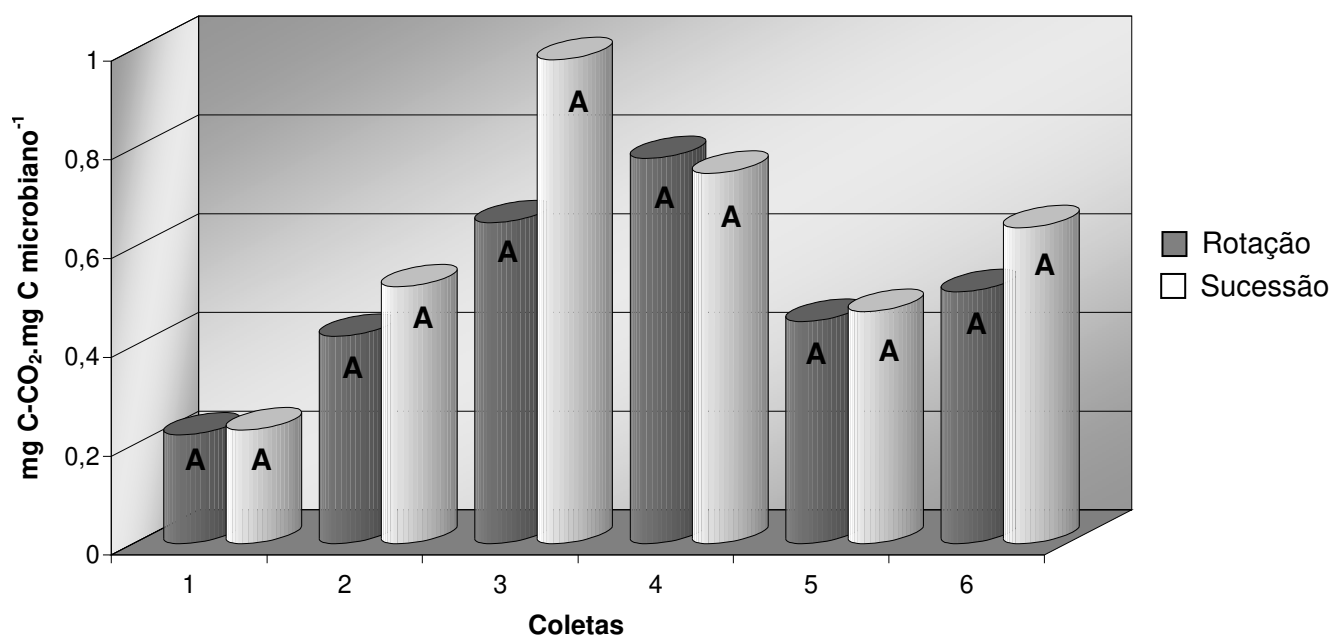


Figura 27: Valores médios de quociente metabólico ($\text{mg C-CO}_2.\text{mg C microbiano}^{-1}$), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante).

Tabela 7. Quociente metabólico induzido (qi) - valores médios de seis coletas (mg C-CO₂.mg C microbiano⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação.

qi – mg C-CO ₂ .mg C microbiano ⁻¹							
Coletas		1	2	3	4	5	6
Datas		04/09/2001	03/10/2001	17/10/2001	07/11/2001	05/12/2001	16/01/2002
Tratamento							
PD ¹	Rotação	1,58C ²	2,08A	1,38A	2,53A	3,30A	3,15A
	Sucessão	1,63C	2,75A	2,43A	2,43A	2,58A	4,20A
PC	Rotação	3,20 ^a	3,63A	12,65A	7,40A	3,85A	4,35A
	Sucessão	2,73 ^a	4,18A	10,73A	5,00A	4,50A	3,90A
C	Rotação	1,98BC	3,30A	2,45A	2,40A	3,73A	2,87A
	Sucessão	2,23B	3,10A	2,20A	3,00A	2,60A	3,80A
Sistema de Manejo							
PD		1,60C	2,41B	1,90B	2,47B	2,94A	3,67A
PC		3,00A	3,94A	11,69A	6,20A	4,17A	4,12A
C		2,09B	3,20AB	2,32B	2,70B	3,16A	3,40A
Sistema de Cultura							
Rotação		2,25A	2,94A	5,49A	4,11A	3,62A	3,51A
Sucessão		2,14A	3,34A	5,12A	3,47A	3,22A	3,97A

¹ PD: plantio direto; PC: plantio convencional; C: cruzador.

² Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Quando o quociente metabólico foi avaliado após a adição de açúcar (Tabela 7), não houve diferença significativa da interação entre os sistemas de manejo e os sistemas de cultura, embora os maiores valores tenham sido observados no plantio convencional. Na coleta 3 foram observados os maiores valores de quociente metabólico. No plantio convencional, esta diferença foi de 817% para o plantio direto e de 416% para o cruzador, comparando-se o sistema de cultura rotação. Para a sucessão foi de 342% em comparação ao plantio direto e de 388% para o cruzador. Esta coleta foi feita após a aração (Figuras 28 e 29).

Conforme já comentado, o quociente mostra a conversão do carbono em biomassa microbiana. Com a adição do açúcar, houve um incremento na disponibilidade de nutriente, diminuindo a eficiência de conversão desse nutriente em biomassa microbiana, quando comparado com a avaliação conduzida sem a indução (Tabela 6).

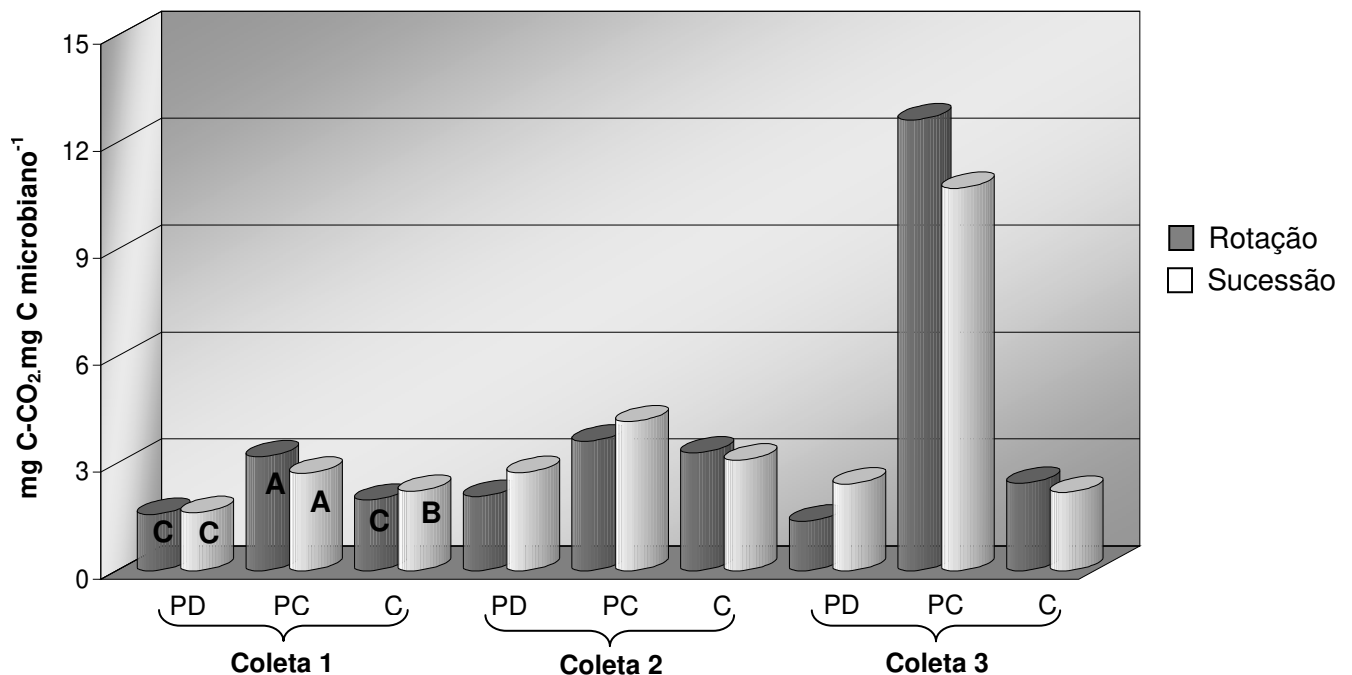


Figura 28: Valores médios de quociente metabólico induzido (mg C-CO₂.mg C microbiano⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 1, 2 e 3 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa).

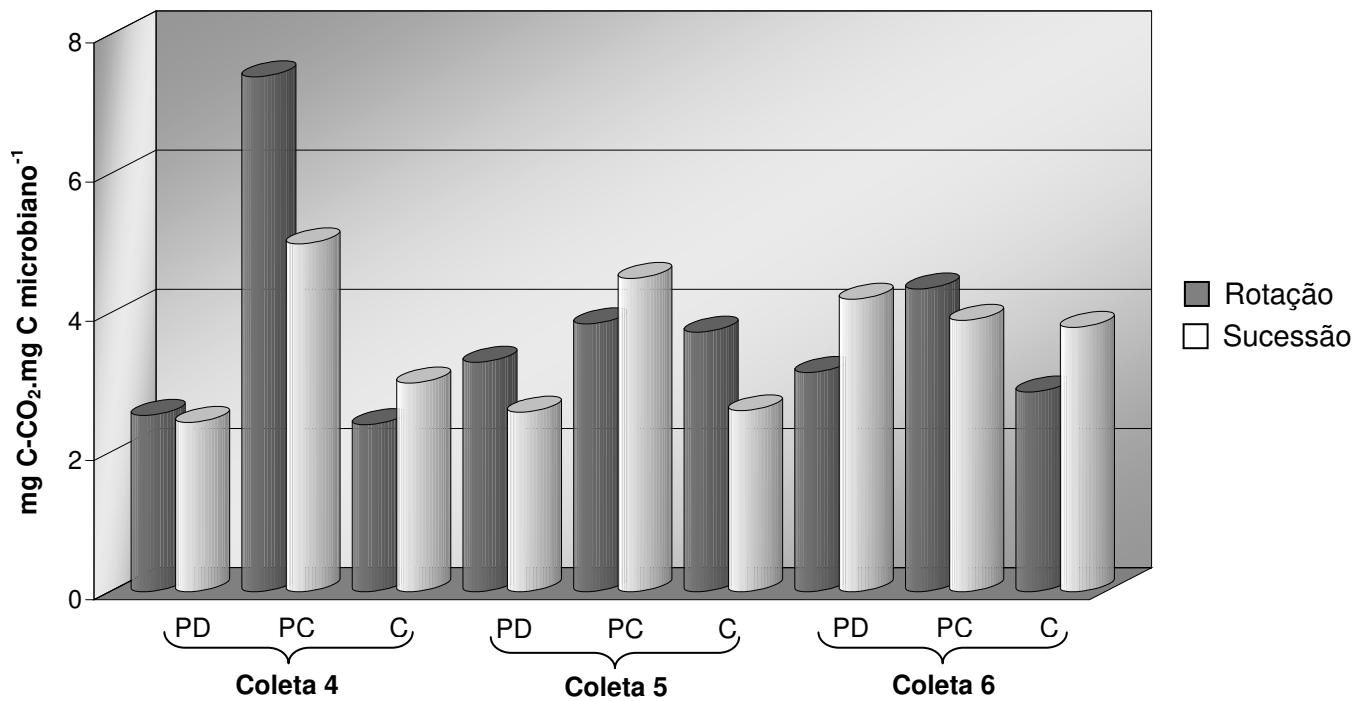


Figura 29: Valores médios de quociente metabólico induzido (mg C-CO₂.mg C microbiano⁻¹), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas coletas 4, 5 e 6 (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante).

Entre os sistemas de manejo só não foi constatada diferença estatística na quinta e sexta coletas. Na terceira coleta, o valor encontrado para o quociente metabólico do plantio convencional foi 515% superior ao do plantio direto e, em relação ao cruzador, a diferença foi de 404%.

Na primeira coleta, os três sistemas foram diferentes estatisticamente. Mais uma vez, os maiores valores foram constatados no plantio convencional, com diferença para o plantio direto de 87% e de 43% para o cruzador (Figura 30).

Também não se observaram diferenças entre os sistemas de cultura rotação e sucessão, sendo ainda os maiores teores verificados na coleta 3 (Figura 31).

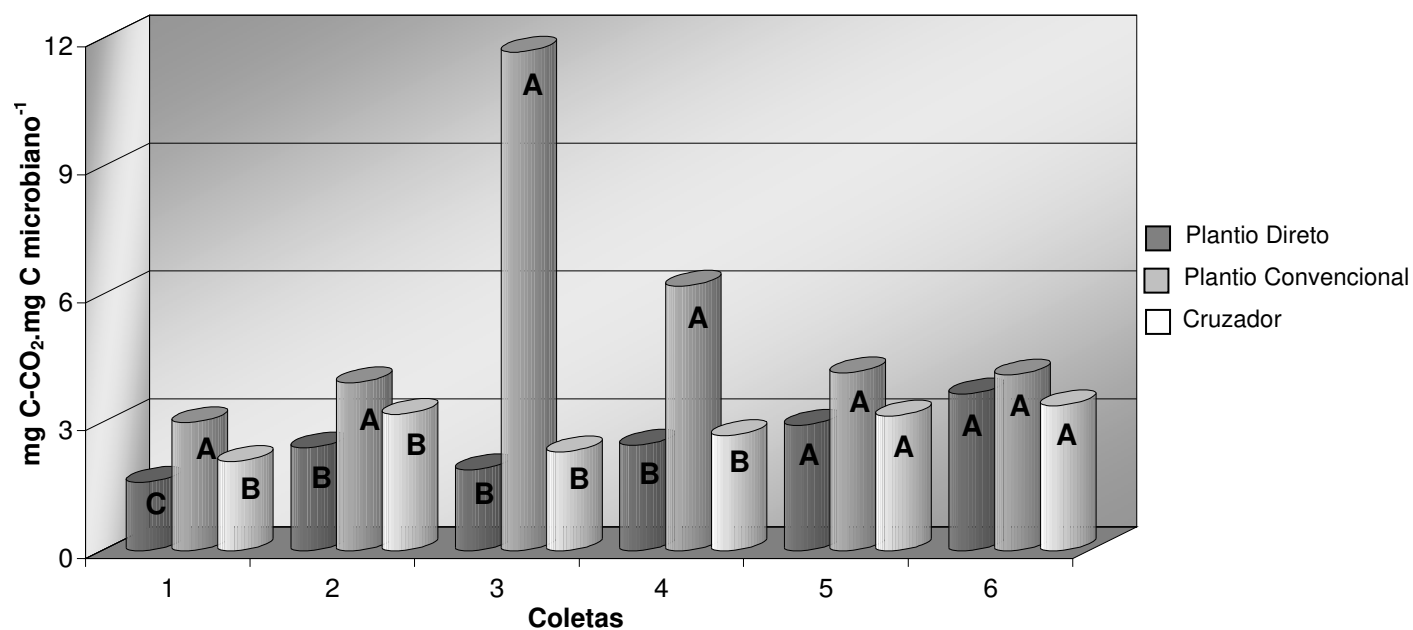


Figura 30: Valores médios de quociente metabólico induzido ($\text{mg C-CO}_2.\text{mg C microbiano}^{-1}$), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante).

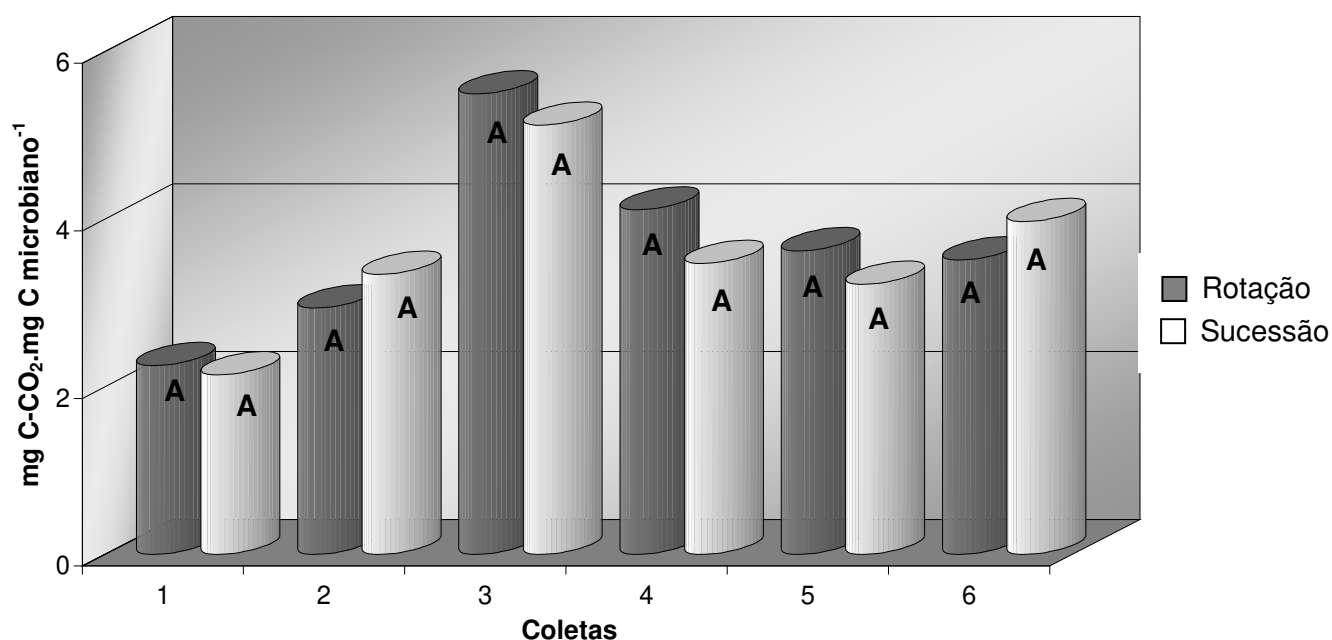


Figura 31: Valores médios de quociente metabólico induzido ($\text{mg C-CO}_2.\text{mg C microbiano}^{-1}$), obtidos pelo método da fumigação-incubação nas seis coletas realizadas (letras diferentes representam diferença estatisticamente significante).

5 Conclusões

5. CONCLUSÕES

Baseado nas amostras estudadas, nas metodologias empregadas e nos resultados obtidos, pode se concluir que:

5.1. Em relação ao teor de carbono da biomassa microbiana avaliado pelo método de fumigação-extração, o sistema plantio direto foi superior aos demais sistemas, sendo seguido do sistema de manejo com cruzador e pelo sistema de plantio convencional, o que diz respeito à qualidade do solo.

5.2. Os valores de nitrogênio da biomassa microbiana obtidos pelo método de fumigação-extração apresentaram um comportamento semelhante ao do carbono, ou seja, o sistema plantio direto proporcionou maior quantidade de nitrogênio, seguido do sistema de manejo com cruzador e, finalmente, pelo sistema de plantio convencional.

5.3. O sistema plantio direto apresentou os maiores teores de carbono da biomassa microbiana quando avaliado pelo método de fumigação-incubação, sendo que o sistema de plantio convencional apresentou os menores valores. Ao se analisar os teores induzidos pelo açúcar, praticamente não houve diferença estatisticamente significativa entre os sistemas de manejo.

5.4. O sistema plantio direto proporcionou maior respiração basal, seguido pelo sistema de plantio convencional e pelo sistema de manejo com cruzador.

5.5. O quociente metabólico e quociente metabólico induzido pelo açúcar apresentaram comportamento semelhante, sendo que o sistema de plantio convencional apresentou maiores valores do que o sistema plantio direto e cruzador, indicando que houve menor perda de carbono do solo no sistema de manejo com cruzador.

5.6. Em relação aos sistemas de cultura pode-se concluir que não houve diferença estatisticamente significativa entre os sistemas de rotação e de sucessão.

5.7. O menor quociente metabólico no sistema de plantio direto indica a maior eficiência da microbiota do solo, implicando menor perda de carbono do solo, e, conseqüentemente, maior acúmulo de carbono na matéria orgânica com o tempo, neste sistema.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALEXANDER, M. **Introduction to soil microbiology**. New York: John Wiley e Sons, 1967. 472p.

ALEXANDER, M. **Introduction to soil microbiology**. 2.ed. New York: John Wiley e Sons, 1977. 467p.

ALVARENGA, M.I.N.; SIQUEIRA, J.O.; DAVIDE, A.C. Teor de carbono, biomassa microbiana, agregação e micorriza em solos de cerrado com diferentes usos. **Ciência Agrotécnica**, v.23, p.617-625, 1999.

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

ANDERSON, J.P.E. Soil respiration. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (Eds.). **Methods of soil analysis, part 2. Chemical and microbiological properties**, 2nd end. American Society of Agronomy, **Soil Science Society of America**, Madison, Wisconsin, 1982. p.831-871.

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

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

ANDRADE, D.S.; HAMAKAWA, P.J. Estimativa do número de células viáveis de rizóbio no solo e em inoculantes por infecção em plantas. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. (Eds.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p.63-94.

ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Introdução. In: ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Eds.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p.7-8.

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**, v.22, p.641-649, 1998.

BARDGETT, R.D.; LEEMANS, D.K. The short-term effects of cessation of fertilizer applications, liming and grazing on microbial biomass and activity in a reseeded upland grassland soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.19, p.148-154, 1995.

BAVER, L.D.; GARDNER, W.H.; GARDNER, W.R. **Soil physics**. 3.ed. New York: John Wiley e Sons, 1956. 459p.

BAYER, C.; BERTOL, I. Características químicas de um Cambissolo húmico afetado por sistema de preparo, com ênfase à matéria orgânica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p.687-694, 1999.

BIEDERBECK, V.O.; CAMPBELL, C.A.; SMITH, A.E. Effects of long-term 2,4-D field applications on soil biochemical processes. **Journal of Environmental Quality**, v.16, p.257-262, 1987.

BRAGAGNOLO, N.; MIELNICZUK, J. Cobertura do solo por resíduos de oito seqüências de culturas e seu relacionamento com a temperatura e umidade do solo, germinação e crescimento inicial do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.14, p.91-98, 1990.

BRANDÃO, E.M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Eds.). **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.1-15.

BROOKES, P.C. The use of microbial parameters in soil pollution by heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, v.19, p.269-279, 1995.

BROOKES, P.C.; HEIJNEN, C.E.; McGRATH, S.P.; VANCE, E.D. Soil microbial biomass estimates in soils contaminated with metals. **Soil Biology and Biochemistry**, v.18, p.383-388, 1986.

BROOKES, P.C.; McGRATH, S.P. Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass. **The Journal of Soil Science**, v.35, p.341-346, 1984.

BURR, I.W.; FOSTER, L.A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue. (Mimeo series, 282), 1972. 26p.

CALEGARI, A. Espécies para cobertura de solo. In: DAROLT, M.R. (Ed.). **Plantio direto: pequena propriedade sustentável**. Londrina: IAPAR, 1998. p.65-94.

CAMBARDELLA, C.A.; ELLIOT, E.T. Particulate soil organic matter changes a grassland cultivation sequence. **Soil Science Society of America Journal**, v.56, p.777-783, 1992.

CARDOSO, C.O.N. Fungos. In: GALLI, F. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1978. p.58-123.

CARTER, M.R. Influence of reduced tillage systems on organic matter, microbial biomass, macro-aggregate distribution and structural stability of surface soil in a humid climate. **Soil & Tillage Research**, v.23, p.361-372, 1992.

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

CARTER, M.R.; RENNIE, D.A. Changes in soil quality under zero tillage farming systems: distribution of microbial biomass and mineralizable C and N potentials. **Canadian Journal of Soil Science**, v.62, p.587-597, 1982.

CATTELAN, A.J.; GAUDÊNCIO, C.A.; SILVA, T.A. Sistemas de rotação de culturas em plantio direto e os microrganismos do solo, na cultura da soja, em Londrina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.21, p.293-301, 1997a.

CATTELAN, A.J.; TORRES, E.; SPOLADORI, C.L. Sistemas de preparo com a sucessão trigo/soja e os microrganismos do solo, em Londrina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.21, p.303-311, 1997b.

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**, v.14, p.133-142, 1990a.

CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.14, p.125-132, 1990b.

CHENG, W.; COLEMAN, D.C. Effects of living roots on soil organic matter decomposition. **Soil Biology and Biochemistry**, v.22, p.781-787, 1990.

CHESBORO, W.; ARBIDGE, M.; EIFFERT, F. When nutrient limitation places bacteria in the domains of slow growth: Metabolic, morphologic and cell cycle behaviour. **FEMS Microbiology Ecology**, v.74, p.103-120, 1990.

COCHRAN, V.L.; HORTON, K.A.; COLE, C.V. An estimation of microbial death rate and limitations of C or N during wheat straw decomposition. **Soil Biology and Biochemistry**, v.20, p.293-298, 1988.

COCHRAN, W.G.; COX, G.M. **Experimental designs**. New York: John Willey, 1957. 611p.

COSTA PINTO, P.A. **Consequências do aquecimento sobre a agregação e outras características dos materiais de Latossolos do Triângulo Mineiro**. Viçosa: U.F.V., 1980. 70p. (Dissertação de Mestrado).

DOMMERGUES, Y.; MANGENOT, F. **Écologie microbienne du sol**. Paris: Masson, 1970. 796p.

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

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (Eds.). **Methods for assessing soil quality**. SSSA Special Publication Number 49. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.25-38.

DUMONTET, S.; MATHUR, S.P. Evaluation of respiration-based methods for measuring microbial biomass in metal-contaminated acidic mineral and organic soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.21, p.431-436, 1989.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Fábio Cesar da Silva (Org.). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 370p.

FEBRAPDP (Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha). Disponível em <http://www.febrapdp.org.br/>. Acesso em 02 mar. 2005.

FEIGL, B.J.; SPARLING, G.P.; ROSS, D.J.; CERRI, C.C. Soil microbial biomass in amazonian soils: evaluation of methods and estimates of pool sizes. **Soil Biology and Biochemistry**, v.27, p.1467-1472, 1995.

FLANAGAN, P.W.; VAN CLEVE, K. Nutrient cycling in relation to decomposition and organic matter quality in taiga ecosystems. **Canadian Journal for Research**, v.13, p.795-817, 1983.

FLIEßBACH, A.; MARTENS, R.; REBER, H.H. Soil microbial biomass and a microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1201-1205, 1994.

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

FRANZLUEBBERS, A.J.; ZUEBERER, D.A.; HONS, F.M. Comparison of microbiological methods for evaluation quality and fertility of soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.19, p.135-140, 1995.

GANTZER, C.J.; BLAKE, G.R. Physical characteristics of le sueur clay loam soil following no-till and conventional tillage. **Agronomy Journal**, v.70, p.853-857, 1978.

GAUR, A.C.; MUKHERJEE, D. Recycling of organic matter through mulch in relation to chemical and microbiological properties of soil and crop yields. **Plant and Soil**, v.56, p.273-281, 1980.

GOTTSCHAL, J.C. Phenotypic response to environmental changes. **FEMS Microbiology Ecology**, v.74, p.93-102, 1990.

GRISI, B.M.; GRAY, T.R.G. Comparação dos métodos de fumigação, taxa de respiração em resposta à adição de glicose e conteúdo de ATP para estimar a biomassa microbiana dos solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.10, p.109-115, 1986.

GROHMANN, F. Análise de agregados de solos. **Bragantia**, v.19, p.201-213, 1960.

HARTLEY, H.O. **Testing the homogeneity of a set of variances**. *Biometrika*, 31, p.249-255, 1940.

HAVLIN, J.L.; KISSEL, D.E.; MADDUX, L.E.; CLAASSEN, M.M.; LONG, J.H. Crop rotation and tillage effects on soil organic carbon and nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, v.54, p.448-452, 1990.

HENDRIX, P.F.; HAN, C.R.; GROFFMAN, P.M. Soil respiration in conventional and no-tillage agroecosystems under different winter cover crop rotations. **Soil & Tillage Research**, v.12, p.135-148, 1988.

HOLMES, W.E.; ZAK, D.R. Soil microbial biomass dynamics and net nitrogen mineralization in northern hardwood ecosystems. **Soil Science Society of America Journal**, v.58, p.238-243, 1994.

IAPAR (Instituto Agrônomo do Paraná). Médias históricas das estações do IAPAR. Disponível em <http://200.201.27.14/Site/Sma/Estacoes_IAPAR/Estacoes_Parana.htm>. Acesso em 02 mar. 2005.

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

INSAM, H.; MITCHELL, C.C.; DORMAAR, J.F. Relationship of soil microbial biomass and activity with fertilization practice and crop yield of three ultisols. **Soil Biology and Biochemistry**, v.23, p.459-464, 1991.

JENKINSON, D.S. Studies on the decomposition of plant material in soil. II. Partial sterilization of soil and the soil biomass. **Journal of Soil Science**, v.17, p.280-302, 1966.

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

JOERGENSEN, R. The fumigation extraction method. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. p.382-387.

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

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

KIEFT, T.L.; ROSACKER, L.L. Application of respiration and adenylate-based soil microbiological assay to deep subsurface terrestrial sediments. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 23, p.563-568, 1991.

KIEHL, E.J. **Manual de edafologia**. São Paulo: Ceres, 1979. 264p.

KNAPP, E.B.; ELLIOTT, L.F.; CAMPBELL, G.S. Microbial respiration and growth during the decomposition of wheat straw. **Soil Biology and Biochemistry**, v.15, p.319-323, 1983.

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

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

LORCH, H.J.; BENCKIESER, G.; OTTOW, J.C.G. Basic methods counting microorganisms in soil and water. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. p.146-161.

LOVELL, R.D.; JARVIS, S.C. Effect of cattle dung on soil microbial biomass C and N in a permanent pasture soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 28, p.291-299, 1996.

LYNCH, J.M.; BRAGG, E. Microorganism and soil aggregate stability. **Advances in Soil Science**, v.2, p.133-171, 1985.

LYNCH, J.M.; PANTING, L.M. Cultivation and the soil biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v.12, p.29-33, 1980a.

LYNCH, J.M.; PANTING, L.M. Variations in the size of the soil biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v.12, p.547-550, 1980b.

MARCHIORI JÚNIOR, M.; MELO, W.J. Carbono, carbono da biomassa microbiana e atividade enzimática em um solo sob mata natural, pastagem e cultura do algodoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p.257-263, 1999.

MARTENS, R. Current methods for measuring microbial biomass C in soil: potentials and limitations. **Biology and Fertility of Soils**, v.19, p.87-89, 1995.

MARTENS, R. Estimation of microbial biomass in soils by the respiration method: importance of soil pH and flushing methods for measurement of respired CO₂. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.77-81, 1987.

MELLO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa, CNPMA, 1998. 488p.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Soybean response to starter nitrogen and Bradyrhizobium inoculation on a Cerrado oxisol under no-tillage and conventional tillage systems. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.81-87, 2003.

MUELLER, B.R.; BEARE, M.R.; CROSSLEY JUNIOR, D.A. Soil mites in detrital food webs of conventional and no-tillage agroecosystems. **Pedobiologia**, v.34, p.389-401, 1990.

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

NUERNBERG, N.J.; VIDOR, C.; STAMMEL, J.G. Efeitos de sucessões de culturas e tipos de adubação na densidade populacional e atividade microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.8, p.197-203, 1984.

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

OKANO, S.; NISHIO, M.; SAWADA, Y. Turnover rate of soil biomass nitrogen in the root mat of pastures. **Soil Science Plant Nutrition**, v.33, p.373-386, 1987.

PARMELEE, R.W.; BEARE, M.H.; CHENG, W.; HENDRIX, P.F.; RIDER, S.J.; CROSSLEY JUNIOR, D.A.; COLEMAN, D.C. Earthworms and enchytraeids in conventional and no-tillage agroecosystems: a biocide approach at assess their role in organic matter breakdown. **Biology and Fertility Soil**, v.10, p.1-10, 1990.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil microbiology and biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1989. 273p.

PFENNING, L.; EDUARDO, B. de P.; CERRI, C.C. Os métodos da fumigação-incubação e fumigação-extração na estimativa da biomassa microbiana dos solos da Amazônia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.16, p.31-37, 1992.

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

REBER, H.H. Simultaneous estimates of the diversity and the degradative capability of heavy-metal-affected soil bacterial communities. **Biology and Fertility of Soils**, v.13, p.181-186, 1992.

RITZ, K.; DIGHTON, J.; GILLER, K.E. **Beyond the biomass composition and functional analysis of soil microbial communities**. Chichester: John Wiley e Sons, 1994. 275p.

RODRIGUES, E.F.; GUERRA, J.G.M.; ALMEIDA, D.L.; DE-POLLI, H. Biomassa microbiana de carbono de solos de Itaguaí (RJ): Comparação entre os métodos fumigação-incubação e fumigação-extração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.18, p.427-432, 1994.

RUSSEL, J.; RUSSEL, E.W. **Las condiciones del suelo y el desarrollo de las plantas**. 8 ed. Madrid: Aguilar, 1954. 770p.

SÁ, J.C.M. **Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas de manejo convencional e plantio direto**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2001. 104p. (Tese de Doutorado).

SAFFIGNA, P.G.; POWLSON, D.S.; BROOKES, P.C.; THOMAS, G.A. Influence of sorghum residues and tillage on soil organic matter and soil microbial biomass in an Australian Vertisol. **Soil Biology and Biochemistry**, v.21, p.759-765, 1989.

SALINAS-GARCIA, J.R.; HONS, F.M.; MATOCHA, J.E. Long-term effects of tillage and fertilization on soil organic matter dynamics. **Soil Science Society of America Journal**, v.61, p.152-159, 1997.

SANTRUCKOVA, H. Microbial biomass, activity and soil respiration in relation to secondary succession. **Pedobiologia**, v.36, p.341-350, 1992.

SAS INSTITUTE **SAS proprietary software release 8.2**. Cary, NC. 2001.

SCARDUA, R. **Porosidade livre de água de dois solos do município de Piracicaba**. Piracicaba: ESALQ, 1972. 83p. (Dissertação de Mestrado).

SHAPIRO, S.S.; WILK, M. B. **An analysis of variance test for normality**. *Biometrika*, 52, p.591-611, 1965.

SILVA FILHO, G.N.; VIDOR, C. As práticas de manejo de solo na população microbiana. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.8, p.291-296, 1984.

SIQUEIRA, J.O. Microrganismos do solo e seus processos: irrelevantes para a produtividade agrícola? In: MONIZ, A.C.; FURLANI, A.M.C.; FURLANI, P.R.; FREITAS, S.S. (Eds.). **A responsabilidade social da Ciência do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1988. p.337-352.

SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotechnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC, 1988. 236p.

SPARLING, G.P. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. (Eds.). **Biological indicators of soil health**. Wallingford: CAB International, 1997. p.97-120.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. Acta Agric. Scand. Sect. B, **Soil Plant Science**, v.49, p.1-24, 1999.

TORSVIK, V.; DAAE, F.L.; SANDAA, R.A.; OVREAS, L. Novel techniques for analyzing microbial diversity in natural and perturbed environments. **Journal of Biotechnology**, v.64, p.53-62, 1998.

TUKEY, J.W. **One degree of freedom for non-additivity**. Biometrics, 5, p.232-242. 1949.

VAN DE WERF, H.; VERSTRAETE, W. Estimation of active soil microbial biomass by mathematical analysis of respiration curves: calibration of test procedures. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.261-265, 1987.

VOMOCIL, J.A. Porosity. In: BLACK, C.A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1965. p.499-510. (Agronomy series n.9).

VOSS M.; SIDIRAS, N. Nodulação da soja em plantio direto em comparação com plantio convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.20, p.775-782, 1985.

WARDLE, D.A. Impact of disturbances on detritus food-webs in agro-ecosystems of contrasting tillage and weed management practices. **Advances in Ecology Research**, v.26, 1994.

WEIGAND, S.; AUERSWALD, K.; BECK, T. Microbial biomass in agricultural topsoils after 6 years of bare fallow. **Biology and Fertility of Soils**, v.19, p.129-134, 1995.

WHITMAN, W.B.; COLEMAN, D.C.; WIEBE, W.J. Prokaryotes: the unseen majority. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.**, v.95, p.6578-6583, 1998.

WILLIAMS, S.T.; WELLINGTON, E.M.H. Actinomycetes. In: MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. **Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties**. Madison: Soil Science Society of American, 1982. p.967-987.

WOLLUM II, A.G. Cultural methods for soil microorganisms. In: MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. **Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties**. Madison: Soil Science Society of American, 1982. p.781-790.

YODER, R.E. A direct method of aggregate analysis of soils and a study of the physical nature of erosion losses. **Journal of America Society Agronomy**, v.28, p.391-399, 1936.