

Universidade Federal de São João del-Rei
Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia

IZABELLE GONÇALVES MELO

**ATIVIDADE MICROBIANA DE SOLO DE CERRADO SUBMETIDO A
DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO DE GRÃOS E FORRAGEM**

SÃO JOÃO DEL REI
MINAS GERAIS – BRASIL
FEVEREIRO DE 2017

IZABELLE GONÇALVES MELO

**ATIVIDADE MICROBIANA DE SOLO DE CERRADO SUBMETIDO A
DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO DE GRÃOS E FORRAGEM**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia da Universidade Federal de São João del Rei como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de “Magister Scientiae” (MS).

SÃO JOÃO DEL REI

MINAS GERAIS – BRASIL

FEVEREIRO DE 2017

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M528a Melo, Isabelle Gonçalves.
Atividade microbiana de solo de Cerrado submetido
à diferentes sistemas de cultivo de grãos e forragem
/ Isabelle Gonçalves Melo ; orientador Ivanildo Evódio
Marriel; coorientadora Christiane Abreu de Oliveira
Miguel Marques Gontijo Neto. -- São João del-Rei,
2017.
68 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Bioengenharia) -- Universidade Federal de São João
del-Rei, 2017.

1. Qualidade do Solo. 2. Atividade Enzimática do
Solo. 3. Bioindicadores. 4. Produção sustentável. 5.
Microrganismos do Solo. I. Marriel, Ivanildo Evódio,
orient. II. Miguel Marques Gontijo Neto, Christiane
Abreu de Oliveira, co-orient. III. Título.

IZABELLE GONÇALVES MELO

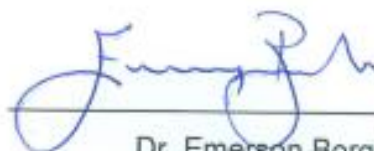
**ATIVIDADE MICROBIANA DE SOLO DE CERRADO SUBMETIDO A
DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO DE GRÃOS E FORRAGEM**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia da Universidade Federal de São João del Rei como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de "Magister Scientiae" (MS).

Aprovada: 20 de fevereiro de 2017



Dra. Sylvia Morais de Sousa
(Membro Interno)



Dr. Emerson Borghi
(Membro Externo)



Dra. Rosângela Maria Simeão
(Suplente)

Dr. Ivanildo Evódio Marriel
(Orientador)

Dedico este trabalho a meus pais de sangue e coração. Por acreditar antes mesmo que eu imaginasse ser possível.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pela preciosa saúde. Por todas as bênçãos e graças a mim concebidas.

À Universidade Federal de São João Del Rei e ao Departamento de Bioengenharia, pela oportunidade de realização do Mestrado.

À Embrapa Milho e Sorgo pela concessão de seu espaço e colaboração na execução dos trabalhos.

À Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro para execução dos trabalhos.

Ao querido professor/orientador, Dr. Ivanildo Evódio Marriel, pela confiança e segurança, apoio, carinho, generosidade, preocupação, paciência, ajuda, risadas, puxões de orelha e incentivo. E além de tudo, por ser meu exemplo. Nunca serei grata o suficiente.

Aos doutores Christiane Abreu Oliveira Paiva e Miguel Marques Gontijo Neto pela coorientação, pelos ensinamentos e esclarecimentos, incentivos e generosidade, boa vontade e disponibilidade.

À banca de defesa pela disponibilidade e contribuição.

À minha mãe Ladd, pelo amor, sacrifícios, torcida e apoio. Por cada abraço e lágrima enxugada, por entender minhas ausências e por ter sido forte quando não consegui ser.

Ao meu pai Landsman, que apesar de originalmente ser meu tio, me ama e cuida como a uma filha, e por juntamente com minha mãe não deixar que nada me faltasse. Por sua inabalável confiança em mim. Por ser meu maior incentivador, meu exemplo de ética, simplicidade e generosidade.

Ao meu PAldrinho Laneslan, por sempre ter uma piadinha nas horas que eram mais difíceis de sorrir. Pelo amor, apoio, amizade, carinho, respeito, confiança e ajuda com a mamãe.

Ao meu irmão Thiago, pelo amor e tolerância nas minhas intolerâncias. Pelos braços sempre fortes e prontos a me carregar quando minhas pernas não me sustentaram.

À minha família, pela felicidade de poder fazer parte dela. Pelo carinho, amizade, amor, preocupações, ajuda e torcida. Pelas intermináveis risadas, abraços apertados,

orações e incentivo. Em especial aos tios Baltazar, Breno, Graça, Ladanir e Luciene, e aos primos Bruno, Dalmo, Fábio e Leonardo por todo apoio, amizade, ajuda e incentivo durante o mestrado.

À minha tia Belkis, pela oportunidade e incentivo de buscar uma educação melhor a 15 anos atrás, por me mostrar uma nova perspectiva e me abrigar todas as vezes que precisei “fugir da civilização”.

Aos irmãos de vida: Anderson, Aline e Rafael, Bruna, Charles Cambota, Rogério Tripa e Felipe. Pela amizade extrema, pela torcida, incentivo e companhia mesmo que de longe, pela força e mãos estendidas nos apertos. Vocês fazem tudo ficar mais fácil.

Aos irmãos de jornada Denise, João Carlos e Talita, pela amizade e ajuda, por serem as melhores companhias de viagem, pelas brigas e risadas, paciência, honestidade, cumplicidade e companheirismo.

Às meninas do Lanec, Bárbara e Michelle, pela amizade, convivência e risadas. Em especial à Daniele Storino, por tudo.

Às meninas da república Recanto das Chamosas, Fernanda, Layla e Nikolle, pela ótima convivência, amizade, companheirismo, compreensão e ajuda nas minhas correrias.

Aos colegas do laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo, Bianca, Clara, Crísia, Daphinn, Fabrício, Fernanda's, Gisele, Jaíne, Jean, Joice, Maycon, Mikaely, Rafael, Ramon, Tábata, Taíse e Vitória pelo suporte, ótima convivência, risadas e disponibilidade.

Aos funcionários da Embrapa, em especial Soraya, Simone Mendes, Dagma, Rosângela Simeão, Reinaldo, Joaquim, Dênio, Clóvis, Fabiano, EneDir, Hosana, Flávio, turma do Protocolo / PABX e às meninas da limpeza, pela simpatia, convivência, carinho, atenção, por toda ajuda e boa vontade.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

“Tudo, aliás, é a ponta de um mistério, inclusive os fatos. Ou a ausência deles.
Duvida? Quando nada acontece há um milagre que não estamos vendo.”
(Guimarães Rosa)

“O papel dos infinitamente pequenos é infinitamente grande.”
(Louis Pasteur)

MELO, Izabelle Gonçalves (MS). Universidade Federal de São João del Rei, Fevereiro de 2017. **Atividade microbiana de solo de cerrado submetido a diferentes estratégias de integração Lavoura-Pecuária**. Orientador: Ivanildo Evódio Marriel. Coorientadores: Christiane Abreu de Oliveira Paiva e Miguel Marques Gontijo Neto.

RESUMO

A atividade agrícola, por meio de diferentes técnicas agrícolas e sistemas de manejo, altera a qualidade microbiológica do solo. Assim, é essencial desenvolver estratégias para avaliar os impactos gerados pelas diferentes práticas de cultivo, utilizando indicadores de qualidade do solo. Este trabalho objetivou determinar as alterações na qualidade biológica de um Latossolo Vermelho distroférico de Cerrado sob sistemas de cultivo de grãos e forrageiras utilizando atividades enzimáticas e sistema Biolog. O estudo foi realizado na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, composto por 11 tratamentos compostos por: (1) monocultura de milho, (2) consórcio (milho consorciado com *B. brizantha* cv Piatã), (3) soja em monocultura, (4) pastagem de *B. brizantha* cv Piatã em monocultura, (5) consórcio/soja em rotação anual, (6) soja/consórcio em rotação anual, (7) consórcio/pasto, (8) pastagem/consórcio em rotação anual, (9) pasto/pasto/consórcio em rotação por 2 anos, (10) pasto/soja/consórcio em rotação anual, e (11) Cerrado natural. As amostras compostas consistiram em três repetições e em três profundidades (0-10, 10-20 e 20-40 cm) coletadas em setembro/2015 e julho/2016. A atividade enzimática para arginase, urease, fosfatase alcalina e β -glicosidase medida pelo método colorimétrico, e a diversidade funcional foi avaliada por Biolog. As atividades microbiana e enzimática foram estatisticamente significativas considerando o período em que as amostras de solo foram coletadas. No período de julho/2016, a atividade da arginase, fosfatase ácida e β -glicosidase apresentou aumento de 78%, 290% e 22%, respectivamente, em relação a setembro/2015. Diferentes, a atividade de urease e fosfatase alcalina apresentou redução de 8% no período de julho/2016. Os resultados deste estudo mostraram que o sistema de culturas causou alterações nas atividades microbianas do solo em relação ao Cerrado e outros sistemas de cultivo em que a comunidade microbiana foi pouco perturbada e mostrou maior estabilidade.

A diversidade funcional microbiana foi maior no período mais úmido de julho/2016 em comparação com o período mais seco de setembro/2015. Os índices de atividade microbiana foram maiores nas camadas superficiais dos solos (0-10 cm) devido aos insumos de matéria orgânica dos resíduos da cultura no solo.

Palavras chave: qualidade biológica, indicadores microbiológicos, plantio direto.

MELO, Izabelle Gonçalves (MS). Universidade Federal de São João del Rei, Fevereiro de 2017. **Microbial activity of brazilian Savanna soil submitted to different integration strategies for Crop-Livestock.** Orientador: Ivanildo Evódio Marriel. Coorientadores: Christiane Abreu de Oliveira Paiva e Miguel Marques Gontijo Neto.

ABSTRACT

The agricultural activity, through different farming technique and management systems alters the microbiological quality of the soil. Thus, it is essential to develop strategies to evaluate the impacts generated by the different crop practices, by using soil quality indicators. This work aimed to determine changes in the biological quality of a Cerrado dystroferric Red Latosol soil under grain and forage cropping systems using enzymatic activities and Biolog system. The study was conducted in the experimental area at Embrapa Milho e Sorgo consisting of 11 treatments composed of: (1) maize monoculture, (2) consortium (corn intercropped with *B. brizantha* cv Piatã), (3) soybean in monoculture, (4) pasture of *B. brizantha* cv Piatã in monoculture, (5) consortium/soybean in annual rotation, (6) soybean/consortium in annual rotation, (7) consortium/pasture, (8) pasture/consortium in annual rotation, (9) pasture/pasture/consortium in rotation for 2 years, (10) pasture/soybean/consortium in annual rotation, and (11) natural Cerrado. Composite samples consisted of three replicates and at three depths (0-10, 10-20 and 20-40 cm) collected in September/2015 and July/2016. The enzyme activity for arginase, urease, acid and alkaline phosphatase and β -glucosidase measured by the colorimetric method, and the functional diversity was evaluated by Biolog. Both, the microbial and enzymatic activities were statistically significant considering the period in which the soil samples were collected. In the period of July/2016, the activity of arginase, acid phosphatase and β -glycosidase showed an increase of 78%, 290%, and 22%, respectively, compared to September/2015. Different, the activity of urease and alkaline phosphatase showed a reduction of 8% in the period of July/2016. The results of this study showed that the crop system caused alterations in the soil microbial activities compared to Cerrado and other cultivation systems in which the microbial community was little disturbed and show greater stability. Microbial functional diversity was higher

in the more humid period of July/2016 compared to the drier period of September/2015. The microbial activity indexes were higher in the superficial layers of the soils (0-10 cm) due to organic matter inputs from the crop residues in the soil.

Key words: biological quality, microbiological indicators, no-tillage.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| DEDICATÓRIA..... | IV |
| AGRADECIMENTOS..... | V |
| RESUMO..... | VIII |
| ABSTRACT..... | X |
| SUMÁRIO..... | XII |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 1.1 SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA..... | 2 |
| 1.2 QUALIDADE DO SOLO..... | 4 |
| 1.2.1 Indicadores microbiológicos de qualidade do solo..... | 5 |
| 1.2.1.1 Atributos biológicos do solo..... | 5 |
| 1.2.1.1.1. <i>Atividade enzimática do solo.....</i> | 6 |
| 1.2.1.1.1.1. <i>Arginase.....</i> | 7 |
| 1.2.1.1.1.2. <i>Urease.....</i> | 8 |
| 1.2.1.1.1.3. <i>Fosfatases.....</i> | 8 |
| 1.2.1.1.1.4. <i>β-glicosidase.....</i> | 10 |
| 1.2.1.1.2 <i>Diversidade funcional da microbiota do solo.....</i> | 11 |
| 2. OBJETIVOS..... | 13 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL..... | 13 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 13 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS..... | 14 |
| 3.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO..... | 14 |
| 3.2. COLETA E PREPARO DO SOLO..... | 17 |
| 3.3. ANÁLISE DE ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS DO SOLO | 17 |
| 3.3.1. Arginase..... | 18 |
| 3.3.2. Urease..... | 18 |
| 3.3.3. Fosfatase ácida e alcalina..... | 19 |
| 3.3.4. β-glicosidase..... | 19 |
| 3.3.5. Análise da diversidade funcional da microbiota do solo | |
| Biolog..... | 20 |
| 4. RESULTADOS..... | 23 |
| 4.1. ATIVIDADE ENZIMÁTICA..... | 23 |
| 4.2. DIVERSIDADE METABÓLICA..... | 27 |
| 4.2.1. Atividade total..... | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2.2. Riqueza de substrato..... | 30 |
| 4.2.3. Diversidade microbiológica (Índice de Shannon (H))..... | 31 |
| 4.2.4. Equidade..... | 31 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 32 |
| 5.1 ATIVIDADE ENZIMÁTICA..... | 32 |
| 5.1.1 Arginase..... | 33 |
| 5.1.2 Urease..... | 34 |
| 5.1.3 Fosfatases..... | 35 |
| 5.1.4 β -glicosidase..... | 36 |
| 5.2 DIVERSIDADE METABÓLICA..... | 37 |
| 5.2.1 Atividade Total..... | 37 |
| 5.2.2 Riqueza de Substrato..... | 38 |
| 5.2.3 Índice de Shannon..... | 39 |
| 5.2.4 Equidade..... | 39 |
| 6 CONCLUSÃO..... | 41 |
| 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 42 |

1. INTRODUÇÃO

Na atualidade, em razão de preocupações da comunidade científica e da população em geral sobre questões relacionadas à mudanças climáticas, o desenvolvimento de sistemas agrícolas sustentáveis tornou-se um tema de interesse global. Apesar das conceituações diversas, a agricultura sustentável envolve o manejo adequado de recursos agrícolas de modo a satisfazer as necessidades humanas, enquanto mantém ou incrementa a qualidade ambiental e conserva os recursos naturais. Isto, necessariamente, implica considerar o relacionamento entre produtividade, diversidade biológica e qualidade do solo (Kennedy & Smith 1995; White *et al.* 2013). Portanto, um dos grandes desafios da agricultura é garantir a oferta de alimentos para a uma população em crescimento, sem desconsiderar os impactos negativos de práticas agrícolas inadequadas sobre a degradação do solo, do ar e água.

Embora o agronegócio brasileiro ocupe posição de destaque na produção de alimentos, fibras e bioenergia para consumo interno e externo. Por outro lado, também contribui com parcela importante da emissão de gases de efeito-estufa (GEE), que são associados ao aquecimento global. Entretanto, o padrão de emissão de GEE pelas atividades antrópicas no Brasil é completamente diferente da situação global. As práticas agrícolas e as mudanças do uso da terra devido ao desmatamento são as principais fontes de emissão destes gases e contribuem com aproximadamente 75% do CO₂ emitido para a atmosfera no País, enquanto apenas 25% são derivados da queima de combustíveis fósseis (Cerri *et al.* 2009). Portanto, a mitigação de impactos de GEE sobre o clima torna-se crucial para a qualidade de vida na terra, dada a sua amplitude, intensidade e efeitos deletérios (Martins *et al.* 2010).

Neste contexto, o Brasil implementou, em 2010, um programa de estímulos à agricultura de baixa emissão de carbono (ABC) através do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA & MDA 2012). Basicamente, este programa contempla apoio ao desenvolvimento de tecnologias que contribuam para a redução de impactos ambientais e aumento da sustentabilidade de atividades agropecuárias. Neste programa, incluem-se a integração lavoura-pecuária-floresta (iLPF), recuperação de pastagens degradadas, dentre outros. E, a Embrapa, seguindo tendência internacional, está envidando grande parte de seus esforços de pesquisa

na busca de soluções viáveis para o produtor rural nas dimensões econômicas, sociais e ambientais (Embrapa 2014).

1.1. SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA

Algumas das estimativas disponíveis indicam que o Brasil possui uma área em torno de 180 milhões de hectares de pastagem, dos quais 70% aproximadamente encontram-se em processo de degradação (Embrapa, 2012; Dias-Filho, 2014). Este fato associado à demanda crescente por alimentos, bioenergia e produtos florestais, em contraposição à necessidade de redução de desmatamento e mitigação da emissão de gases de efeito estufa, exigem soluções que permitam incentivar o desenvolvimento socioeconômico sem comprometer a sustentabilidade dos recursos naturais.

Diante desse cenário, o sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (iLP) torna-se uma alternativa viável de produção para recuperação de áreas alteradas ou degradadas, além de recuperar e/ou preservar a estrutura e a biodiversidade do solo. Resumidamente, a iLP é uma estratégia de produção sustentável que associa atividades agrícolas e pecuárias realizadas em uma mesma área, em cultivo consorciado, em sucessão ou rotação de culturas, buscando efeitos sinérgicos entre os componentes do agroecossistema (MAPA & MDA 2012). Visa, ainda, a recuperação de áreas degradadas, a adoção de boas práticas agropecuárias (BPA) e aumentar a eficiência com o uso de máquinas, equipamentos e mão de obra, possibilitando, assim, gerar emprego e renda, melhorar as condições sociais no meio rural e reduzir impactos ao meio ambiente (Balbino *et al.* 2011; MAPA & MDA 2012; Embrapa 2013).

Vale salientar que existem diferentes modalidades de sistemas iLP e iLPF (Balbino *et al.* 2011): (i) integração Lavoura-Pecuária ou Agropastoril: sistema de produção que integra o componente agrícola e pecuário em rotação, consórcio ou sucessão; na mesma área e em um mesmo ano agrícola ou por múltiplos anos; (ii) integração Pecuária-Floresta ou Silvipastoril: sistema de produção que integra o componente pecuário e florestal, em consórcio; (iii) integração Lavoura-Floresta ou Silviagrícola: Sistema de produção que integra o componente florestal e agrícola, pela

consorciação de espécies arbóreas com cultivos agrícolas (anuais ou perenes) e (iv) Integração Lavoura-Pecuária-Floresta ou Agrossilvipastoril: sistema de produção que integra os componentes agrícola, pecuário e florestal em rotação, consórcio ou sucessão, na mesma área.

Em razão de seus benefícios potenciais, a iLP foi incluída entre as tecnologias que compõem os compromissos voluntários assumidos pelo Brasil na COP-15, que resultaram na criação do Plano Setorial para a Consolidação de uma Economia de Baixa Emissão de Carbono na Agricultura, denominado Plano ABC (Agricultura de Baixa Emissão de Carbono) e coordenado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Esta tecnologia apresenta grande potencial de sequestro de carbono pelos elevados acúmulos de biomassa forrageira e florestal e acúmulo de matéria orgânica no solo, a ILPF ajuda a reduzir a emissão de gases de efeito estufa (GEE) na atmosfera (Alves *et al.* 2015).

Além disso, outros benéficos desta prática podem ser incluídos: recuperação mais eficiente da fertilidade do solo; facilidade da aplicação de práticas de conservação do solo; recuperação de pastagens com custos mais baixos; facilidade na renovação das pastagens; melhoria nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo; redução do uso de agroquímicos em razão da quebra dos ciclos de pragas, doenças e plantas daninhas; aproveitamento do adubo residual; maior eficiência na utilização de máquinas, de equipamentos e de mão de obra; diversificação do sistema produtivo; e, aumento da produtividade do negócio agropecuário, tornando-o sustentável em termos econômicos e agroecológicos (Kichel e Miranda 2000; Vilela *et al.* 2008).

De fato, vários estudos conduzidos sob diferentes condições edafoclimáticas têm demonstrado a viabilidade técnica e econômica de diferentes modelos de sistemas de iLP (Dubè *et al.* 2000; Cordeiro e Silva 2010; Alves *et al.* 2015; Cordeiro *et al.* 2015b).

Por outro lado, alguns pré-requisitos são necessários para um sistema de iLP sustentável: (i) tecnicamente eficiente, considerando o ambiente no qual se encontra a propriedade e utilizando manejos e insumos adequados e de acordo com as recomendações oficiais; (ii) economicamente viável, pela melhor utilização dos recursos e uso da terra, diversificação e maior estabilidade das receitas e diminuição dos riscos; (iii) socialmente aceitável, por ser aplicável a qualquer tamanho de propriedade, aumentar e distribuir melhor a renda no campo e aumentar a

competitividade do agronegócio brasileiro e (iv) ambientalmente adequado, por preconizar a utilização de práticas conservacionistas e de melhor uso da terra (Embrapa 2012).

Mas, vale salientar que a maior sustentabilidade de quaisquer agroecossistemas depende de alterações favoráveis em seus atributos químicos, físicos e principalmente biológicos do solo.

1.2. QUALIDADE DO SOLO

O manejo do solo, que afeta diretamente sua qualidade, constitui um componente fundamental na busca de sistema de produção agrícola sustentável, e a degradação do solo decorrente de manejos agrícolas inadequados tem sido uma das ações mais preocupantes em função das alterações provocadas em seus atributos químicos, físicos e biológicos, que reduzem sua capacidade produtiva (Santos *et al.* 2013).

Historicamente, atributos físicos e químicos têm sido preconizados como medidas de produtividade do solo e, em particular, a determinação de matéria orgânica, que se relaciona à saúde e/ou qualidade do solo (Calazans *et al.* 2010). Entretanto, essas características variam lentamente no ambiente e, assim, são necessários vários anos para se detectar suas alterações, a partir de perturbações antrópicas, em função de uso da terra. Por outro lado, os atributos biológicos são úteis como indicadores por serem sensíveis às mudanças iniciais de estresses ecológicos e/ou restauração da qualidade do solo, em função do sistema de manejo utilizado (Dick *et al.* 1996).

Basicamente, o papel dos microrganismos está associado à ciclagem de nutrientes, agregação e formação da fertilidade do solo e biorremediação, dentre outros. As comunidades microbianas exibem grande heterogeneidade nas suas características morfológicas, fisiológicas e genéticas (Atlas 1984), sendo as interações entre biodiversidade microbiana e funcionamento sustentado dos agroecossistemas relevantes, em particular sob condições tropicais.

Em estudos de ecologia microbiana do solo, a associação entre métodos tradicionais de estudo contribui para melhor compreensão da relação microrganismos-

cobertura vegetal, em termos de população, estrutura, funções e estabilidade de agroecossistemas (Doran & Zeiss 2000; Epelde 2014).

1.2.1. Indicadores de qualidade do Solo

A escolha de bioindicadores de qualidade do solo deve atender a alguns critérios básicos, tais como: (i) envolver processos ocorrentes no ecossistema, (ii) ser sensível as variáveis de manejo e de clima, e (iii) ser componente de banco de dados de solos, sempre que possível; (iv) integrar seus atributos físicos, químicos e, particularmente, biológicos (Doran & Parkin 1994).

1.2.1.1. Atributos biológicos do solo

A análise de bioindicadores de qualidade biológica do solo é relevante principalmente para avaliar o desempenho de atividades funcionais de agroecossistemas, como dinâmica de matéria orgânica, ciclagem e armazenamento de nutrientes, dentre outros (Pezarico 2009; Zilli *et al.* 2003; Sousa 2014). Portanto, os indicadores microbiológicos têm sido frequentemente sugeridos como ferramentas sensíveis para detectar impactos causados pelo manejo do solo, quando comparados àqueles de caráter físico ou químico (Matsuoka *et al.* 2003; Bending *et al.* 2004).

Segundo Pezarico (2009), tal característica pode ser de grande importância na distinção de sistemas avaliados que utilizam diferentes práticas de manejo, ou na avaliação precoce de eventuais efeitos adversos do manejo sobre a qualidade do solo, como a atividade enzimática, a avaliação da diversidade microbiana e biomassa microbiana, dentre outros. Isso permitiria a adoção antecipada de medidas corretivas ou de controle para minimizar ou evitar a degradação destas áreas.

1.2.1.1.1. *Atividade Enzimática do Solo*

A conservação e manutenção dos ecossistemas agrícolas e florestais são em parte, de responsabilidade dos microrganismos presentes no solo, via enzimas, que através do processo de transformação da matéria orgânica, catalisam reações e tornam disponíveis vários nutrientes, beneficiando assim as plantas e os microrganismos (Moreira & Siqueira 2006). De modo geral, estas enzimas são produzidas por macro ou microrganismos, incluindo plantas e animais, via intra e extracelulares, sendo a biomassa microbiana sua principal fonte no solo (Moreira & Siqueira 2006; Sousa 2014).

Lisboa *et al.* (2012) explicaram que as determinações enzimáticas são mensuradas em termos de atividade e não de quantidade em função de sua baixa concentração no solo. Sendo assim, a atividade é avaliada através da quantificação do produto gerado após adicionar um substrato específico para cada enzima, em uma concentração conhecida, onde ocorrerá a ligação e, posteriormente, a quebra desse substrato, e com a incubação sob condições ótimas de pH e temperatura (Tabatabai 1994).

As enzimas degradam macromoléculas insolúveis que compõem a matéria orgânica do solo e detritos, transformando-as em moléculas solúveis menores para assimilação das plantas (Wallenstein & Weintraub 2008). Sua atividade no solo é considerada como gargalo nos processos de ciclagem, como o ciclo do carbono e disponibilização de nutrientes para as culturas (McDaniel *et al.* 2013; Sousa 2014).

Segundo Aon *et al.* (2001), a atividade enzimática pode ser afetada pelas práticas de manejo do solo, ocorrendo reduções em sistemas convencionais quando comparado aos manejos conservacionistas. Tal afirmativa é corroborada por Carneiro *et al.* (2013) ao afirmar que o não revolvimento do solo no sistema de Plantio Direto (SPD), aumenta a atividade de enzimas como a urease; o que evidencia a importância das enzimas como indicador da qualidade do solo, indicando se o manejo adotado favorece uma estabilização da matéria orgânica e de outras propriedades estruturais associadas (agregação e porosidade) que não são passíveis de detecção num curto período de tempo (Kandeler *et al.* 1999; Green *et al.* 2007; Vallejo *et al.* 2010; Dick & Burns 2011), uma vez que, segundo Balota *et al.* (2013) as enzimas se comportam de

modo semelhante à matéria orgânica do solo, constituindo-se em impressões digitais dos sistemas de manejo em que o solo foi submetido.

1.2.1.1.1.1. *Arginase*

A arginase é uma enzima que desempenha papel importante no ciclo do nitrogênio, uma vez que catalisa a conversão de L-arginina no solo em L-ornitina e ureia, liberando amônio (Witte 2011; Megda 2013). Além disso, esta enzima catalisa a formação de óxido nítrico (NO) que está envolvido em uma variedade de funções biológicas (Hibbs *et al.* 1988; Moncada *et al.* 1991).

Durante a senescência das plantas, é observado o aumento na atividade da enzima arginase, e por consequência o aumento do conteúdo de ureia, e nessa etapa, o nitrogênio armazenado na forma de arginina é metabolizado e transportado para as sementes em desenvolvimento (Machado 2015).

Sua atividade é dependente de células microbianas metabolicamente ativas, e tem sido considerada como medida importante do N potencialmente mineralizável no solo, que é a população metabolicamente ativa, ou seja, é o N disponibilizado para as plantas, serve também como medida da atividade microbiana global (Alef & Kleiner 1987; Andrews *et al.* 1989; Bonde *et al.* 2001). Além disso outras pesquisas demonstram correlação positiva entre atividade desta enzima e taxa respiratória e biomassa microbiana do solo (Murphy *et al.* 1998), que são, componentes importantes de qualidade do solo.

Os aminoácidos representam a maior fração do N orgânico encontrado no solo, e são liberados dos resíduos vegetais através de atividades proteolíticas (Stevenson 1982). A arginase é utilizada para medir a taxa de ocorrência dessa amonificação, uma vez que seu substrato, a arginina, é rico em grupos amina e amplamente utilizado pela biomassa microbiana do solo (Alef & Kleiner 1986).

Em algumas situações, as mudanças na qualidade do solo não são possíveis de ser detectadas através da análise da arginase (Dilly & Munch 1998; Bandick & Dick 1999). No entanto, esta enzima foi capaz de indicar diferenças entre diversos tratamentos empregados em solos de um sítio agroecológico, no Cerrado de Minas Gerais (Monteiro *et al.* 2004).

1.2.1.1.1.2. Urease

A urease é a enzima que catalisa a reação de hidrólise da molécula de ureia em amônia e CO₂, e é considerada vital para a regulação do suprimento de N às plantas, uma vez que a ureia é uma das principais formas de fertilizante nitrogenado (Balota 2013; Sousa 2014). A urease do solo tem origem vegetal e principalmente microbiana, sendo encontrada tanto intra como extracelularmente (Burns 1982).

O papel da urease nas plantas está vinculado à utilização de nitrogênio a partir da hidrólise da ureia proveniente do catabolismo da arginina, que é a principal forma de armazenamento de nitrogênio em sementes e, que por sua vez, é degradada em ornitina e ureia pela arginase (Silva 2012a; Machado 2015).

A análise da atividade desta enzima é de suma importância, uma vez que através dela, pode-se chegar a conclusões acerca dos efeitos da adição de resíduos vegetais e às práticas de adubação no solo (Dick *et al.* 1996; Li *et al.* 2013). Segundo Melo *et al.* (2010), se a análise da urease apresentar atividade alta, significa que há rápida formação de amônia, e a mesma pode ser perdida por volatilização para a atmosfera, pois no solo, ela se transforma no íon amônio, que pode ser absorvido pelas plantas ou nitrificado, e o excesso pode ocasionar o risco de se perder por lixiviação; caso apresente atividade da urease baixa, a produção de N-amoniaco pode ser menor que as exigências nutricionais da planta. De acordo com Gill-Sotres *et al.* (2005), somente a utilização desta enzima para determinar a qualidade do solo apresenta resultados limitados, em função da grande influência das práticas de adubações.

1.2.1.1.1.3. Fosfatases

A fosfatase é um grupo de enzimas que atua na mineralização do fósforo (P), e segundo o seu pH ótimo de ação, são classificadas em ácidas (pH 6,5) e alcalinas (pH 11). São enzimas induzíveis, o que quer dizer que são sintetizadas em condições de baixa disponibilidade de fósforo inorgânico no solo (Allison *et al.* 2011). As raízes das plantas e os microrganismos transformam o fósforo orgânico (Po) em fósforo

inorgânico (Pi) que é o P assimilável pelas plantas, através da liberação de enzimas globalmente denominadas fosfatases (Conte *et al.* 2002). Estas enzimas catalisam a hidrólise de ésteres e anidridos de fosfato (PO_4^{3-}), com amplitude de especificidade, pois atuam em diversos substratos (Sousa 2014).

As fosfatases têm função principal no ciclo do P nos solos, sendo associada com a deficiência de P e o crescimento das plantas (Balota *et al.* 2013). A atividade das fosfatases pode ser influenciada pela adubação, fazendo com que esta aumente após a adição de pequenas doses de fertilizantes, mas decresça na presença de doses mais elevadas, já que o incremento da atividade dessa enzima está relacionado com altos teores de P inorgânico no solo (Skujins 1967). Segundo Balota *et al.* (2013), em solos com baixos teores de P, ocorre acréscimo na liberação de fosfatases objetivando elevar a mineralização e remobilização do fosfato. A concentração de fosfatase decresce em monocultivos quando os microrganismos são transferidos de meios deficientes para os com teores suficientes de fosfato (Nannipieri *et al.* 1978).

A maioria dos estudos com fosfatases é direcionada para relatar o comportamento da fosfatase ácida visto que grande parte dos solos agricultáveis, principalmente sob condições tropicais e subtropicais, são ácidos; além de ser responsável pela liberação do ânion PO_4 , que atua na mineralização de ésteres e anidridos de ácido fosfórico, responsável em parte no ciclo do fósforo no solo (Balota *et al.* 2013; Lisboa *et al.* 2012). A avaliação dos níveis de atividade desta enzima em solos sob diferentes sistemas de cultivo, bem como de áreas preservadas, demonstra a dinâmica do P nestas áreas. De acordo com Mendes *et al.* (2012), valores relativamente altos de atividade de fosfatase ácida em solos de Cerrado com intensa degradação ou sob vegetação nativa podem expressar resposta microbiana e vegetal à deficiência de P grave nessas áreas. Sinsabaugh *et al.* (1993) afirmaram que, em condições semelhantes a esta, a produção de fosfatase é estimulada e exsudada por raízes de plantas e microrganismos do solo, aumentando o aporte de P inorgânico a partir de compostos orgânicos de P. Em contrapartida, quando há muito P inorgânico disponível no solo, a produção de fosfatase tende a ser inibida (Mendes *et al.* 2012).

Diferente da fosfatase ácida que é produzida por microrganismos e animais do solo, a fosfatase alcalina é sintetizada apenas por microrganismos, com atividade predominante em solos alcalinos, atuando na desfosforilação, que remove grupos fosfatos (Eivazi & Tabatabai 1977). Usualmente, catalisam a hidrólise de compostos

fosfatados orgânicos, produzindo fósforo solúvel no solo, podendo ser consideradas como bons indicadores da fertilidade e qualidade do solo (Balota *et al.* 2013).

1.2.1.1.1.4. β -glicosidase

Responsável por catalisar a hidrólise de vários β -glicosídeos, com papel essencial na ciclagem de nutrientes, as glicosidases são umas das mais comuns e abundantes enzimas dos solos (Tabatabai 1994; Sousa 2014). Tal enzima realiza a hidrólise limite da celulose e é detectada em diversos organismos, como animais, plantas, bactérias e fungos, e sua atividade pode ser influenciada pela temperatura do solo, pH, qualidade e conteúdo de matéria orgânica (Tabatabai 1994; Daroit 2007; Balota *et al.* 2013).

Por ser uma das enzimas mais comuns encontradas no solo, a β -Glicosidase tem papel fundamental na hidrólise de celobiose, atuando na etapa final de degradação da celulose, liberando como produto a glicose, que é uma importante fonte de energia para os microrganismos (Makoi & Ndakidemi 2008, Lopes 2012). Além de ser bastante utilizada na determinação da qualidade do solo por ser muito sensível a práticas de manejo (Gil-Sotres *et al.* 2005), a β -glicosidase tem importante papel no solo pois está envolvida na hidrólise e biodegradação de diversos resíduos nos ecossistemas (Tabatabai 1994).

A enzima β -glicosidase é capaz de se ligar ao substrato p-Nitrofenil- β -D-Glicosídeo (PNG) a fim de avaliar sua atividade em amostras de solo, formando o produto p-Nitrofenol que pode ser determinado através de espectrofotometria na região do visível (Tabatabai 1982; Eivazi & Tabatabai 1988; Balota *et al.* 2013). Mediante a determinação da atividade da β -glicosidase, é possível avaliar o comportamento do ciclo do C, ter ideia da atividade biológica passada no solo, avaliar a disponibilidade deste como fonte de energia aos microrganismos e plantas, e saber qual a real capacidade do solo em estabilizar a matéria orgânica (Balota *et al.* 2013; Sousa 2014). Diante disso, esta enzima é utilizada na detecção do efeito do manejo do solo e como indicadora da qualidade do mesmo (Bandick & Dick 1999; Acosta-Martinez & Tabatabai 2000).

O estudo da atividade desta enzima no solo é primordial, uma vez que se supõe que sua atuação seja um indicador mais sensível do que a análise do C lábil na detecção da diminuição das frações de C com maior labilidade no solo (Morais 2013). Segundo Mendes *et al.* (2015) e Peixoto *et al.* (2010), as áreas de Cerrado nativo com teores de matéria orgânica semelhantes aos das áreas cultivadas apresentam consistentemente menores valores para atividade da β -glicosidase. Tal observação, que poderia ser considerada uma anomalia (Stott *et al.* 2010), na realidade está relacionada com a quantidade e qualidade dos resíduos vegetais restituídos ao solo, que são mais complexos nas áreas nativas do que nas áreas agrícolas (Peixoto *et al.* 2010), resultando assim, em redução da atividade da enzima β -glicosidase, que atua na etapa final de decomposição da celulose (Tabatabai 1994).

1.2.1.1.2. Diversidade funcional da microbiota do solo

A diversidade funcional reflete o perfil fisiológico/metabólico das comunidades microbianas em amostras ambientais, tendo grande importância para o funcionamento de ecossistemas, pois compreendem números, tipos, atividades e taxa de microrganismos, que metabolizam diferentes fontes de carbono, constituindo-se num *fingerprint* específico de determinado (Garland & Mills 1991).

A diversidade funcional dos microrganismos do solo tem grande relevância em avaliações ecológicas pois está diretamente relacionada à estabilidade dos agroecossistemas (Kennedy 1999; Zilli *et al.* 2003). Segundo Torsvik & Øvreås (2002), com relação ao metabolismo microbiano no ecossistema de maneira geral, o padrão resposta é que a princípio, a diversidade funcional em uma área sem cobertura vegetal seja baixa, e à medida que a vegetação se estabelece, a diversidade metabólica microbiana aumenta de modo acelerado, contudo, em fases mais avançadas de sucessão vegetal, a abundância relativa das atividades metabólicas cai e se mantém estável.

A diversidade funcional pode ser medida através de índices matemáticos, que consideram informações taxonômicas na definição das taxas das comunidades microbianas em amostras ambientais, através de diferentes índices, tais como o de

atividade total, Shannon, riqueza de substrato, de equidade (Kennedy 1999; Zilli *et al.* 2003).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Determinar possíveis alterações na qualidade biológica do solo de Cerrado sob diferentes sistemas de cultivo de grãos e forragem em função de época de amostragem e profundidade.

2.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a atividade de urease, arginase, fosfatases e β -glicosidase em solo de Cerrado sob diferentes sistemas de cultivo de grãos e forragem, em duas profundidades e duas épocas de amostragem.
- Determinar a diversidade metabólica da comunidade microbiana de solo de cerrado sob estratégias de iLP, em função da profundidade e época de amostragem.
- Avaliar qual sistema de cultivo proporciona melhores atividades microbianas que possam refletir na produtividade de grãos e forragem.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo pertencente à Embrapa Milho e Sorgo localiza-se no estado de Minas Gerais, no município de Sete Lagoas, com coordenadas 19°28'S de latitude, 44°15'08"W de longitude e altitude de 732m (Figura 1).



Figura 1 – Localização da área de estudo. Fotografia aérea dos sistemas de cultivo na Embrapa Milho e Sorgo, destacando e identificando as três parcelas de coleta e o Cerrado natural. A– Parcela 1, B– Parcela 2, C– Parcela 3 e D– Cerrado natural. Fonte: Arnaldo Pontes, 2015.

O experimento é de longa duração com início a partir do ano agrícola 2010/2011. As unidades experimentais, submetidas a diferentes sistemas de cultivo encontram-se detalhadas na Tabela 1.

O solo da área em estudo é classificado como Latossolo Vermelho distroférico (LVd) A moderado, textura argilosa, fase Cerrado subcaducifólio, e relevo suave ondulado, segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SiBCS) (Embrapa 2013). Como característica granulométrica, a área apresenta 14% de areia, 13% de silte e 73% de argila para a profundidade de 0-20 cm. Os resultados das características químicas por sistema de cultivo, podem ser visualizados na Tabela 2.

Tabela 1 – Histórico de dez sistemas de cultivo de grãos e forragem, e uma área de Cerrado natural em cada ano agrícola, da Embrapa Milho e Sorgo.

| Tratamentos | 2010/2011 | 2011/2012 | 2012/2013 | 2013/2014 | 2014/2015 | 2015/2016 | 2016/2017 |
|---------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 1 milho (M) | M | M | M | M | M | M | M |
| 2 consórcio (CON) | CON | CON | CON | CON | CON | CON | CON |
| 3 soja (S) | S | S | S | S | S | S | S |
| 4 pastagem (P) | P | P | P | P | P | P | P |
| 5 cons./soja | CON | S | CON | S | CON | S | CON |
| 6 soja/cons. | S | CON | S | CON | S | CON | S |
| 7 cons./past. | CON | P | CON | P | CON | P | CON |
| 8 past./cons. | P | CON | P | CON | P | CON | P |
| 9 past./past./cons. | P | P | CON | P | P | CON | P |
| 10 past./soja/cons. | P | S | CON | P | P | S | CON |
| 11 Cerrado (C) | C | C | C | C | C | C | C |

Tabela 2 – Características químicas do Latossolo Vermelho distroférico, na profundidade de 0-20 cm, sob dez sistemas de cultivo de grãos e forragem e uma área de Cerrado natural, da Embrapa Milho e Sorgo, coletados em setembro de 2015. Valores médios de três repetições.

| TRATAMENTOS | pH | H+Al | P | K | M.O. | C | Al | Ca | Mg | SB | CTC | Cu | Fe | Mn | Zn |
|-------------|------------------|-----------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------|------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | H ₂ O | cmolc/dm ³ | ----- mg/dm ³ ----- | ----- mg/dm ³ ----- | dag/kg | % | ----- cmolc/dm ³ ----- | ----- cmolc/dm ³ ----- | ----- cmolc/dm ³ ----- | ----- cmolc/dm ³ ----- | ----- cmolc/dm ³ ----- | ----- mg/dm ³ ----- | ----- mg/dm ³ ----- | ----- mg/dm ³ ----- | ----- mg/dm ³ ----- |
| 1 | 5,6 | 8,99 | 34,07 | 97,72 | 4,35 | 2,53 | 0,52 | 2,67 | 0,65 | 3,57 | 12,56 | 1,21 | 38,92 | 23,54 | 4,65 |
| 2 | 5,2 | 10,13 | 15,82 | 48,32 | 3,76 | 2,18 | 0,80 | 1,87 | 0,36 | 2,35 | 12,48 | 1,09 | 38,92 | 18,15 | 3,51 |
| 3 | 5,6 | 8,79 | 16,80 | 64,89 | 4,09 | 2,38 | 0,55 | 3,15 | 0,71 | 4,02 | 12,81 | 1,23 | 36,25 | 21,46 | 2,20 |
| 4 | 5,6 | 9,12 | 25,92 | 79,05 | 4,35 | 2,53 | 0,38 | 3,36 | 0,76 | 4,32 | 13,44 | 1,18 | 34,76 | 24,14 | 3,94 |
| 5 | 5,1 | 10,52 | 17,67 | 55,97 | 4,19 | 2,43 | 0,59 | 2,25 | 0,44 | 2,83 | 13,35 | 1,07 | 35,51 | 19,15 | 3,44 |
| 6 | 5,4 | 8,47 | 11,60 | 70,13 | 4,36 | 2,53 | 0,48 | 3,64 | 0,81 | 4,63 | 13,09 | 1,21 | 36,38 | 15,67 | 16,74 |
| 7 | 5,7 | 8,01 | 15,25 | 81,62 | 4,25 | 2,47 | 0,22 | 4,13 | 0,93 | 5,27 | 13,28 | 1,15 | 37,70 | 17,67 | 26,58 |
| 8 | 5,4 | 9,61 | 12,35 | 58,61 | 3,87 | 2,25 | 0,31 | 2,86 | 0,59 | 3,60 | 13,22 | 1,05 | 38,49 | 17,39 | 18,47 |
| 9 | 5,7 | 8,29 | 13,71 | 41,13 | 4,32 | 2,51 | 0,46 | 3,12 | 0,69 | 3,91 | 12,21 | 1,03 | 37,33 | 24,80 | 9,51 |
| 10 | 5,8 | 8,47 | 18,56 | 32,22 | 4,58 | 2,66 | 0,48 | 2,93 | 0,65 | 3,65 | 12,12 | 0,97 | 34,76 | 29,28 | 3,03 |
| 11 | 5,3 | 10,13 | 12,70 | 26,80 | 4,04 | 2,35 | 0,58 | 2,15 | 0,38 | 2,60 | 12,73 | 0,98 | 33,06 | 20,50 | 1,64 |

O clima da região segundo a classificação de Köppen é do tipo Aw, típico de savana, com inverno seco e com precipitação média anual de 1300 mm e temperatura média de 22,1 °C.

Os diferentes sistemas de cultivo foram implementados sob sistema de plantio direto, em solo de Cerrado sob lavouras de verão de milho solteiro em monocultivo (M), soja em monocultivo (S), pastagem (*B. brizantha* cv Piatã) em monocultivo (P), consórcio (milho consorciado com *B. brizantha* cv Piatã) (CON), e rotação entre as mesmas (Tabela 1). Solo de uma área de Cerrado natural situado nas proximidades dos sistemas foi utilizado como controle para esse trabalho, totalizando assim, 11 tratamentos avaliados.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com três repetições e 11 tratamentos. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão (ANOVA) através do software SISVAR e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

3.2. COLETA E PREPARO DO SOLO

As amostras foram coletadas em setembro/2015 e julho/2016. Com auxílio de um tubo Shelby e um trado tipo Holandês, foram retiradas amostras compostas de cinco subamostras, em três profundidades (0-10, 10-20 e 20-40 cm) de cada parcela. Após coleta no campo, as amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e transportados para o laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo da Embrapa Milho e Sorgo, onde foram peneiradas em peneiras de 2 mm de abertura da malha e mantidas com a umidade do momento da coleta sob refrigeração (+/- 4°C) até o momento de suas análises. Para análise de Carbono orgânico total, as amostras foram secas em estufa de circulação de ar a 40 °C por 24 horas.

3.3. ANÁLISE DE ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS DO SOLO

3.3.1. Arginase

Para a determinação da atividade da arginase foi utilizada a metodologia descrita por Alef e Kleiner (1986):

Um grama de solo de cada amostra foi incubado, em tubos Falcon de 15 mL, com 0,25 mL de solução de arginina por duas horas a 37 °C. Após esse período, foi acrescentado aos tubos quatro mL de Cloreto de Potássio (1 M), agitando-se por 30 minutos e, em seguida, centrifugando-se a 4000 rpm por 10 minutos. Foram aliqüotados 100 µl do sobrenadante de cada amostra e misturada a 1,0 mL das soluções para colorimetria. Após 1 hora de repouso das amostras para desenvolvimento de cor, realizou-se a leitura no espectrofotômetro a 660 nm. Fez-se a curva padrão com Cloreto de amônio nos níveis de 0, 5, 10, 15 e 20 µg de NH₄⁺N mL⁻¹.

3.3.2. Urease

A atividade da urease foi determinada pelo método descrito por Kandeler & Gerber (1988) da seguinte forma:

Meio (0,5) grama de solo de cada amostra foi incubado com 0,25 mL de solução de ureia (4,8 g/L) por uma hora a 37 °C em tubos de centrífuga de 15 mL. Após esse período, foi acrescentado aos tubos cinco mL de solução composta por HCl 1N e KCl 1M, os mesmos foram submetidos a agitação horizontal por 30 minutos e posteriormente centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos. Foram aliqüotados 100 µl do sobrenadante de cada amostra e misturada a 1,0 mL das soluções para colorimetria. Após 1 hora de repouso das amostras para desenvolvimento de cor, realizou-se a leitura no espectrofotômetro a 660 nm. Fez-se a curva padrão com Cloreto de amônio nos níveis de 0,5,10,15 e 20 µg de NH₄⁺N mL⁻¹.

3.3.3. Fosfatase Ácida e Alcalina

A atividade da fosfatase foi determinada através do método preconizado por Tabatabai *et al.* (1994).

Amostras de 0,15 g de solo foram tratadas com 0,48 mL de solução contendo TRIS e os ácidos málico, cítrico e bórico, cujo pH é ajustado de acordo com a fosfatase a ser analisada; pH 6,5 para ácida e 11,0 para alcalina. Em seguida, adicionou-se 0,12 mL de solução p-nitrofenil fosfato de sódio 0,05M e as mesmas foram incubadas por uma hora a 37°C. Após a incubação, adicionou-se 0,12 mL de solução de CaCl₂ 0,5M e 0,48 mL da solução NaOH 1M, seguindo-se homogeneização em Vórtex e posterior centrifugação a 8000 rpm por cinco minutos. A leitura do sobrenadante foi realizada no espectrofotômetro a 400 nm.

3.3.4. β-glicosidase

As β-glicosidases são um grupo de enzimas que catalisam a hidrólises de ligações glicosídicas β 1-4, típicas de polímeros como a celulose. Estão amplamente distribuídas na natureza, no solo são produzidas principalmente por fungos. O método apresentado está baseado na determinação colorimétrica do p-nitrofenol liberado pela ação da β-glicosidase sobre o p-nitrofenil-β-D-glicopiranosídeo quando o solo é incubado com uma solução tampão (pH 6,0).

A atividade da β-glicosidase foi determinada através do método preconizado por Tabatabai *et al.* (1994).

Meio (0,5) grama amostras de solo foram acrescidas de 2 mL de solução tampão MUB (pH 6,0) e 0,5 mL de solução PNG 0,025 mol L⁻¹. Os tubos foram submetidos à agitação em Vórtex e incubados por 1 hora a 37°C. Após o período de incubação, adicionou-se 0,5 mL de solução CaCl₂ 0,5M e 2,0 mL de solução tampão TRIS 0,1M, pH 12,0. Em seguida, os tubos foram reagitados e levados a centrifugação por 5 minutos a 3000 rpm. A leitura do sobrenadante foi realizada no espectrofotômetro a 410 nm.

3.3.5. Análise da diversidade funcional da microbiota do solo

A determinação da diversidade funcional da microbiota do solo foi realizada através da metodologia descrita por Zak *et al.* (1994).

As microplacas “Biolog” baseiam-se em testes de oxidação de 30 fontes de carbono incluindo álcoois, compostos poliméricos, açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos, presentes em microplacas com 31 poços. A utilização das fontes de C é detectada através da presença de um indicador que promove a mudança de coloração dos poços quando um substrato é utilizado pelo microrganismo durante o processo de respiração (Silva 2012b).

Amostras de 2,5 g de amostras de solo foram adicionadas em tubos Falcon contendo 22,5 mL de Solução Salina 0,85% previamente autoclavada, e levadas à agitação horizontal por 30 minutos. Logo após, as amostras foram mantidas em repouso para decantação e posteriormente filtradas em papel Whatman nº2 (10⁻¹). Foi aliquoteado 1 mL do filtrado, adicionado em tubo Falcon contendo 9 mL de Solução Salina 0,85% autoclavada e homogeneizado em Vórtex brevemente (10⁻²).

Em seguida, o conteúdo do tubo foi despejado em “container” estéril, e com o auxílio de uma pipeta Multicanal 120 µL da amostra foram transferidos para cada cavidade da placa “Ecoplates” ®(Biolog, Inc., Hayward, CA, USA) (Figura 1). Cada microplaca é composta por três grupos de 31 diferentes substratos de C (ácidos carboxílicos, carboidratos, polímeros, aminoácidos e amidos), além da testemunha (cavidade sem substrato). As placas foram incubadas no escuro em temperatura ambiente e as leituras das mesmas foram realizadas no leitor de placas de Elisa (Labstems, MultSkan, MS) a 405 e 590 nm nos tempos: 72, 96 e 120 horas de incubação.

A capacidade da microbiota em utilizar ou não uma determinada fonte de carbono foi calculada da seguinte forma:

Atividade (Wi)

$$W_i = (W_a - W_o)$$

Onde,

W_i = atividade da cavidade i, com i variando de 1(um) a 31 na Ecoplate;

Wa = leitura da cavidade;

Wo = leitura do controle.

Os valores acima de zero foram considerados de reação positiva (evidência de utilização de substrato) e os valores negativos indicaram ausência de uso do substrato.

Atividade total (AT)

$$AT = \sum Wi$$

Onde,

AT = Atividade total;

Wi = atividade da cavidade i, com i variando de 1(um) a 31 na Ecoplate.

Os parâmetros da diversidade metabólica foram estimados a partir do índice de Shannon (H) que compreende tanto a riqueza de substrato (S) como a intensidade com que são usados pela microbiota. O H foi calculado de acordo com Zak *et al.* (1994), utilizando a seguinte equação:

Índice de Shannon

Compreende tanto a riqueza de substratos como a intensidade com que eles foram usados pela microbiota. É medido através do cálculo preconizado por Zak *et al.* (1994).

$$H = - \sum (Wi/AT * (\ln(Wi/AT)))$$

Onde,

H = Índice de Shannon;

Wi = atividade da cavidade i, com i variando de 1(um) a 31 na Ecoplate;

ln = logaritmo a ser calculado.

A **riqueza de substrato (S)**, que reflete, até certo ponto, o número de espécies na comunidade, foi obtida a partir da soma dos números de cavidades com atividade positiva ($Wi > 0$).

A **equidade ou índice de similaridade (E)** indica o grau de uniformidade de utilização de um substrato em relação ao número de substratos utilizados pela microbiota. O E foi calculado de acordo com Zak *et al.* (1994) da seguinte forma:

$$E = H / \ln S$$

Onde,

E = equidade

H = índice de Shannon

S = riqueza de substrato

4. RESULTADOS

4.1. ATIVIDADE ENZIMÁTICA DO SOLO

Os resultados obtidos através da determinação da atividade enzimática dos solos coletados em setembro/2015 e julho/2016, em função de diferentes sistemas de produção de grãos e forragem e profundidades, estão apresentados nas tabelas 3 e 4 respectivamente.

Nas amostras de solo coletadas em setembro/2015, a enzima arginase apresentou maior atividade no sistema sob Cerrado natural e a menor atividade no monocultivo de milho, com valores de 2,92 e 7,54 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo, para milho e Cerrado respectivamente, e média geral da atividade de 6,503 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo (Tabela 3). Maior atividade da enzima urease também foi observada no solo de Cerrado natural (219,91 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo) e menor atividade nos demais sistemas que não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,01$), com valor de média geral 155,021 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo (Tabela 3). Os sistemas de cultivo não diferiram estatisticamente para as enzimas fosfatase ácida, fosfatase alcalina e β -glicosidase, apresentando atividade dessas enzimas semelhante ao encontrado no Cerrado natural.

No tocante à profundidade, maiores valores de atividade microbiana foram observados na camada superficial (0-10 cm) e menor atividade na profundidade e 20-40 cm para as enzimas arginase (7,374 a 5,912 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo), fosfatase ácida (2757,397 a 2176, 281 $\mu\text{g p-nitrofenol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo) e fosfatase alcalina (8808,050 a 6853, 476 $\mu\text{g p-nitrofenol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo) (Tabela 3). A urease não apresentou diferença significativa entre as profundidades. Diferente do observado nas demais enzimas, a β -glicosidase apresentou maior atividade na camada de 20-40 cm e menor na camada 10-20 cm, com valores variando entre 48,672 e 24,991 $\mu\text{g PNG h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo.

Tabela 3 – Atividade enzimática sob dez sistemas de cultivo de grãos e forragem e uma área de Cerrado natural da Embrapa Milho e Sorgo, coletados em setembro de 2015. Valores médios de três repetições.

| VALOR DE Fc | | | | | |
|----------------------|--|---------------------|--|---------------------|---------------------|
| | ARGINASE | UREASE | F. ÁCIDA | F. ALCALINA | β-GLICOSIDASE |
| | ----- µg N-NH ₄ ⁺ h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | ----- µg p-nitrofenol h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | |
| SISTEMAS | 7,403** | 4,070** | 2,500 ^{NS} | 1,634 ^{NS} | 0,641 ^{NS} |
| PROFUNDIDADES | 10,706** | 1,075 ^{NS} | 35,167** | 33,442** | 43,574** |
| SIST X PROF | 0,233 ^{NS} | 0,714 ^{NS} | 0,734 ^{NS} | 0,528 ^{NS} | 2,056 ^{NS} |
| SISTEMAS | ARGINASE | UREASE | F. ÁCIDA | F. ALCALINA | β-GLICOSIDASE |
| | ----- µg N-NH ₄ ⁺ h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | ----- µg p-nitrofenol h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | |
| 1 milho (M) | 2,923 b | 152,887 b | 2292,706 a | 7856,836 a | 34,165 a |
| 2 consórcio (CON) | 6,896 a | 162,033 a b | 2654,760 a | 8102,610 a | 37,404 a |
| 3 soja (S) | 6,685 a | 168,360 a b | 2202,053 a | 7706,507 a | 37,893 a |
| 4 pastagem (P) | 6,307 a | 152,528 b | 2243,584 a | 6914,300 a | 37,281 a |
| 5 cons./soja | 6,656 a | 176,455 a b | 2547,786 a | 7663,557 a | 34,452 a |
| 6 soja/cons. | 6,822 a | 118,052 b | 2505,631 a | 8109,770 a | 31,991 a |
| 7 cons./past. | 7,018 a | 148,081 b | 2495,204 a | 7086,104 a | 37,444 a |
| 8 past./cons. | 6,744 a | 133,771 b | 2453,718 a | 7413,008 a | 34,180 a |
| 9 past./past./cons. | 6,846 a | 136,227 b | 2516,838 a | 7417,782 a | 38,503 a |
| 10 past./soja/cons. | 7,095 a | 136,920 b | 2226,383 a | 8226,693 a | 41,795 a |
| 11 Cerrado (C) | 7,542 a | 219,913 a | 2510,168 a | 7940,352 a | 38,612 a |
| MÉDIA GERAL | 6,503 | 155,021 | 2400,621 | 7676,138 | 36,702 |
| CV(%) | 20,79 | 26,19 | 12,01 | 13,12 | 28,08 |
| PROFUNDIDADES | ARGINASE | UREASE | F. ÁCIDA | F. ALCALINA | β-GLICOSIDASE |
| | ----- µg N-NH ₄ ⁺ h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | ----- µg p-nitrofenol h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | |
| 0-10 cm | 7,374 a | 149,659 a | 2757,397 a | 8808,050 a | 36,442 b |
| 10-20 cm | 6,223 b | 152,031 a | 2334,185 b | 7367,889 b | 24,991 c |
| 20-40 cm | 5,912 b | 163,371 a | 2176,281 b | 6852,476 b | 48,672 a |

Nas análises realizadas no solo coletado em julho/2016, observou-se que a enzima arginase apresentou maior atividade no sistema sob Cerrado natural ($15,934 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo) e menor atividade nos demais sistemas que não diferiram entre si ($p > 0,01$), com valor de média geral igual a $11,627 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo (Tabela 4). Resultado semelhante foi observado ao analisar a enzima urease, em que o valor de média geral da atividade foi de $135,501 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo. Já a enzima fosfatase ácida apresentou maior valor de atividade no sistema sob Cerrado natural e menor valor no monocultivo de milho, com valores variando entre $8590,660$ e $10348,733 \mu\text{g p-nitrofenol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo, para milho e Cerrado respectivamente, e média geral da atividade microbiana de $9385,10 \mu\text{g p-nitrofenol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo (Tabela 4). Similarmente ao ocorrido no período de setembro/2015, as enzimas fosfatase alcalina e β -glicosidase não apresentaram diferença significativa em função dos sistemas de cultivo.

Ao analisar os dois períodos de coleta, em julho/2016 a atividade microbiana foi 78%, 290% e 22% maior para as enzimas arginase, fosfatase ácida e β -glicosidase, respectivamente, em comparação a setembro/2015. O contrário ocorreu com as enzimas urease e fosfatase alcalina, que tiveram suas atividades reduzidas em aproximadamente 8% cada uma.

Quanto às profundidades, de maneira geral, os maiores valores de atividade microbiana foram observados na camada superior de 0-10 cm e menor atividade na profundidade de 20-40 cm, com valores variando entre $10,344$ e $13,893 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo para a enzima arginase, $121,886$ e $146,617 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo para urease, $7456,995$ e $12001,995 \mu\text{g p-nitrofenol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo para fosfatase ácida e, $5670,765$ e $8205,148 \mu\text{g p-nitrofenol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ solo para a fosfatase alcalina. A enzima β -glicosidase não apresentou diferença significativa entre as profundidades.

Tabela 4 – Atividade enzimática sob dez sistemas de cultivo de grãos e forragem e uma área de Cerrado natural da Embrapa Milho e Sorgo, coletados em julho de 2016. Valores médios de três repetições.

| VALOR DE Fc | | | | | |
|----------------------|--|---------------------|--|---------------------|---------------------|
| | ARGINASE | UREASE | F. ÁCIDA | F. ALCALINA | β-GLICOSIDASE |
| | ----- µg N-NH ₄ ⁺ h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | ----- µg p-nitrofenol h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | |
| SISTEMAS | 3,950** | 10,398** | 3,549** | 1,010 ^{NS} | 1,313 ^{NS} |
| PROFUNDIDADES | 14,413** | 4,553** | 174,952** | 55,132** | 2,564 ^{NS} |
| SIST X PROF | 0,558 ^{NS} | 0,849 ^{NS} | 1,247 ^{NS} | 0,783 ^{NS} | 0,905 ^{NS} |
| SISTEMAS | ARGINASE | UREASE | F. ÁCIDA | F. ALCALINA | β-GLICOSIDASE |
| | ----- µg N-NH ₄ ⁺ h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | ----- µg p-nitrofenol h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | |
| 1 milho (M) | 10,717 b | 123,561 b | 8590,640 c | 6018,655 a | 54,158 a |
| 2 consórcio (CON) | 13,297 a b | 137,354 b | 9442,012 a b c | 6915,146 a | 49,563 a |
| 3 soja (S) | 9,756 b | 132,903 b | 8685,530 b c | 6761,344 a | 44,790 a |
| 4 pastagem (P) | 9,187 b | 149,687 b | 8677,622 b c | 6680,397 a | 35,522 a |
| 5 cons./soja | 9,445 b | 126,952 b | 9724,043 a b c | 6848,363 a | 43,113 a |
| 6 soja/cons. | 11,120 b | 105,363 b | 8693,437 b c | 6747,178 a | 41,746 a |
| 7 cons./past. | 12,614 a b | 123,651 b | 10256,480 a b | 6528,623 a | 44,492 a |
| 8 past./cons. | 11,991 a b | 105,847 b | 9494,727 a b c | 6524,573 a | 49,474 a |
| 9 past./past./cons. | 12,623 a b | 127,745 b | 9795,211 a b c | 6757,297 a | 48,578 a |
| 10 past./soja/cons. | 11,211 b | 119,374 b | 9527,674 a b c | 7281,430 a | 42,256 a |
| 11 Cerrado (C) | 15,934 a | 238,078 a | 10348,733 a | 7186,317 a | 40,814 a |
| MÉDIA GERAL | 11,627 | 135,501 | 9385,101 | 6749,938 | 44,955 |
| CV(%) | 25,61 | 24,94 | 10,87 | 15,00 | 30,08 |
| PROFUNDIDADES | ARGINASE | UREASE | F. ÁCIDA | F. ALCALINA | β-GLICOSIDASE |
| | ----- µg N-NH ₄ ⁺ h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | ----- µg p-nitrofenol h ⁻¹ g ⁻¹ solo ----- | | |
| 0-10 cm | 13,893 a | 146,617 a | 12001,995 a | 8205,148 a | 48,283 a |
| 10-20 cm | 10,644 b | 121,886 b | 8696,312 b | 6373,902 b | 45,722 a |
| 20-40 cm | 10,344 b | 138,001 a b | 7456,995 c | 5670,765 c | 40,861 a |

4.2. DIVERSIDADE METABÓLICA DO SOLO

Os resultados da diversidade metabólica ou perfil fisiológico da comunidade microbiana, através do Sistema Biolog, foram obtidos a partir de da estimativa de cinco parâmetros: Índice de desenvolvimento de cor (AWCD), Atividade Total, Riqueza de Substrato (S), Índice de Shannon (H) e Equidade (E), considerando-se somente a profundidade de 0-10 cm.

Os valores do índice de desenvolvimento de cor (AWCD) dos períodos de setembro/2015 e julho/2016 foram determinantes para estabelecer o período de tempo de incubação utilizado nas demais análises, onde se considera o ponto de maior atividade microbiana, que neste trabalho foi o de 120 horas de incubação (Figuras 2 e 3).

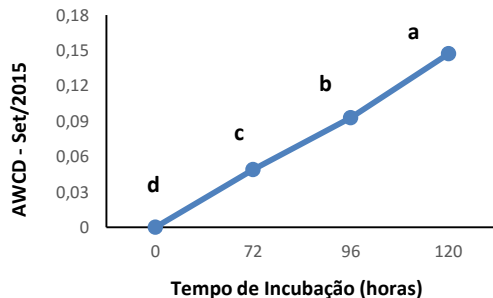


Figura 2 – Índice de desenvolvimento de cor (AWCD) nas placas de Biolog, no período de setembro/2015. Valores médios para três repetições.

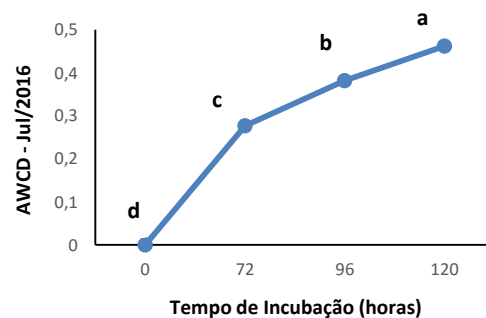


Figura 3 – Índice de desenvolvimento de cor (AWCD) nas placas de Biolog, no período de julho/2016. Valores médios para três repetições.

Os resultados obtidos através da determinação da Atividade Total (AT), Riqueza de Substrato (S), Índice de Shannon (H) e Equidade (E) dos solos coletados em setembro/2015 e julho/2016, em função de diferentes sistemas de produção de grãos e forragem e profundidades, estão apresentados nas tabelas 5 e 6 respectivamente.

Tabela 5 – Diversidade metabólica de dez sistemas de cultivo de grãos e forragem e uma área de Cerrado natural da Embrapa Milho e Sorgo, coletados em setembro de 2015. Profundidade de 0-10 cm. Valores médios de três repetições.

| VALOR DE F _c | | | | |
|-------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | AT | S | H | E |
| SISTEMAS | 1,882 ^{NS} | 2,995 ^{**} | 2,280 ^{**} | 0,850 ^{NS} |
| SISTEMAS | AT | S | H | E |
| 1 milho (M) | 3,623 a | 9,333 a b | 2,155 a b | 0,990 a |
| 2 consórcio (CON) | 4,802 a | 12,000 a b | 2,216 a b | 0,904 a |
| 3 soja (S) | 5,095 a | 13,666 a b | 2,358 a b | 0,912 a |
| 4 pastagem (P) | 3,244 a | 7,333 b | 1,696 b | 1,176 a |
| 5 cons./soja | 7,584 a | 10,000 a b | 2,389 a b | 0,874 a |
| 6 soja/cons. | 3,901 a | 13,333 a b | 2,30 a b | 0,929 a |
| 7 cons./past. | 8,041 a | 18,666 a | 2,644 a | 0,915 a |
| 8 past./cons. | 2,420 a | 8,000 b | 1,917 a b | 0,925 a |
| 9 past./past./cons. | 2,044 a | 8,333 a b | 2,201 a b | 1,046 a |
| 10 past./soja/cons. | 5,589 a | 12,000 a b | 2,174 a b | 1,075 a |
| 11 Cerrado (C) | 3,772 a | 11,333 a b | 2,081 a b | 0,857 a |
| MÉDIA GERAL | 4,556 | 11,818 | 2,200 | 0,963 |
| CV(%) | 53,47 | 29,75 | 13,17 | 19,04 |

Tabela 6 – Diversidade metabólica de dez sistemas de cultivo de grãos e forragem e uma área de Cerrado natural da Embrapa Milho e Sorgo, coletados em julho de 2016. Profundidade de 0-10 cm. Valores médios de três repetições.

| | VALOR DE Fc | | | |
|---------------------|--------------|----------------|-------------|---------|
| | AT | S | H | E |
| SISTEMAS | 3,985** | 10,012** | 6,980** | 7,879** |
| SISTEMAS | AT | S | H | E |
| 1 milho (M) | 9,468 b c | 16,333 a b c d | 2,423 a b c | 0,906 b |
| 2 consórcio (CON) | 3,241 b c | 11,000 c d | 2,190 a b | 0,913 b |
| 3 soja (S) | 1,071 c | 4,333 d | 1,676 c | 1,146 a |
| 4 pastagem (P) | 17,230 a b c | 26,667 a b | 2,935 a b | 0,900 b |
| 5 cons./soja | 23,508 a b | 28,000 a | 3,035 a | 0,914 b |
| 6 soja/cons. | 23,784 a | 24,000 a b | 2,747 a b | 0,887 b |
| 7 cons./past. | 6,837 b c | 14,333 b c d | 2,309 a b c | 0,872 b |
| 8 past./cons. | 17,034 a b c | 27,667 a | 2,941 a b | 0,889 b |
| 9 past./past./cons. | 20,837 a b c | 27,667 a | 3,054 a | 0,926 b |
| 10 past./soja/cons. | 19,900 a b c | 24,667 a b | 2,820 a b | 0,899 b |
| 11 Cerrado (C) | 14,847 a b c | 23,000 a b c | 2,728 a b | 0,902 b |
| MÉDIA GERAL | 14,341 | 20,696 | 2,623 | 0,923 |
| CV(%) | 48,45 | 21,15 | 10,72 | 5,03 |

4.2.1. Atividade total (AT)

A atividade total reflete a soma das atividades positivas nas cavidades da microplaca Biolog e relaciona-se à densidade de células na suspensão da amostra.

Observou-se diferença significativa ($p > 0,01$) na atividade total somente nas placas Biolog do solo coletado em julho/2016 (Tabela 6), sendo a atividade total mais

elevada no sistema sob rotação de soja e consórcio de milho e pastagem atingindo o valor de 23,784, e a menor atividade no sistema sob monocultivo de soja com valor de 1,071, e média geral de 14,341. Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si.

4.2.2. Riqueza de Substrato (S)

A riqueza de substrato medida através das placas Ecoplate, reflete a utilização dos substratos pela comunidade microbiana.

Houve diferença significativa ($p < 0,01$) para riqueza de substratos em função da época de amostragem e sistemas de cultivo (Tabelas 5 e 6). Maior valor de S no período de setembro/2015 foi observado em solo sob rotação de consórcio de milho e pastagem e o monocultivo de pastagem, com valores atingindo 18,666, e menores valores encontrados no monocultivo de *B. brizantha* cv Piatã (7,333) e rotação anual entre pastagem e consórcio de milho e *B. brizantha* cv Piatã (8,00). A média geral de utilização de substrato neste período foi de 11,818.

O valor de S foi 75% maior na análise realizada nos solos coletados no período de julho/2016 em comparação ao período anterior, apresentando valor de média geral de utilização do substrato de 20,696 (Tabela 6). Maiores valores de S foram encontrados nos sistemas sob rotação anual de consórcio de milho e pastagem e a soja (28,0), rotação anual de pastagem e consórcio (27,667) e rotação em 2 anos de pastagem e consórcio (27,667), e o menor valor de S foi observado no monocultivo de soja (4,333). Os demais sistemas de cultivo não diferiram entre si estatisticamente.

4.2.3. Índice de Shannon (H)

O Índice de Diversidade de Shannon (H) apresenta a diversidade de microrganismos presentes no sistema, e a escala de H para as placas do tipo Ecoplate varia de 0 a 4.

Os dois períodos de coleta apresentaram diferença significativa ($p < 0,01$) para os sistemas de cultivo avaliados. Em setembro/2015, maior valor de H foi observado em solo sob sistema de rotação anual entre consórcio de milho e pastagem e a pastagem, com valores atingindo 2,644. O monocultivo de pastagem de *B. brizantha* cv Piatã foi o sistema que apresentou menor valor para o índice de Shannon, com valor atingindo 1,696 (Tabela 6). Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente.

Em julho/2016, os sistemas sob consórcio e soja em rotação anual e, pastagem e consórcio em rotação por 2 anos apresentaram maiores valores de H, atingindo 3,035 e 3,054, respectivamente. O menor valor de H foi observado sob o monocultivo de soja (1,676), e a média geral foi de 2,623. Os demais sistemas não apresentaram diferença estatística significativa.

A variação dos valores observada nos dois períodos de coleta, indicam uma grande diversidade de microrganismos no solo avaliado independente dos sistemas.

4.2.4. Equidade

A equidade estimada pelo sistema Biolog indica de que forma a atividade total está distribuída nas cavidades com atividade positiva na microplaca. Quanto maior a uniformidade na intensidade de uso dos substratos, ou seja, as cavidades que desenvolveram cor estão com a mesma intensidade, maior a equidade. Se os substratos são utilizados de maneira (intensidade) muito diferente entre si, a equidade é menor.

A equidade pode indicar se um grupo de microrganismos, que usa um determinado substrato, está predominando na área, ou se todos os grupos participam na mesma proporção.

As amostras coletadas em setembro/2015, não apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) para a equidade (Tabela 5). Já nas amostras coletadas em julho/2016, somente o solo sob o monocultivo de soja apresentou maior E, atingindo o valor de 1,146. Os demais sistemas de cultivo não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 6).

5. DISCUSSÃO

5.1. ATIVIDADE ENZIMÁTICA DO SOLO

No Cerrado, as enzimas arginase, urease, fosfatase ácida e β -glicosidase apresentaram aumento na atividade em solo coletado em julho/2016, época considerada como final do período chuvoso, em comparação com o solo coletado em setembro/2015, época considerada como final do período de seca. Resultados semelhantes foram observados por Carvalho (2016) ao analisar a atividade enzimática de Cerrado, Cerradão e Campo Graminóide, nos períodos de seca e chuva. Nardoto & Bustamante (2003) também encontraram maior atividade enzimática em solo de Cerrado do Planalto Central no período chuvoso. O mesmo não ocorreu com a enzima fosfatase alcalina, que teve decréscimo de 8% em sua atividade no período úmido. Desta forma, os resultados demonstraram que os períodos de amostragem contribuíram para a variação no teor de umidade e na temperatura do solo, uma vez que, de acordo com Mendes *et al.* (2012), a umidade é um importante fator para a comunidade microbiana em solos de Cerrado.

Segundo Bandick & Dick (1999), é comum encontrar valores relativamente maiores em solos de mata quando comparados a solos com outro tipo de vegetação e mesmo em solos sob culturas, já que a microbiota é favorecida pela maior diversidade florística e pela cobertura vegetal, que propicia maior acúmulo de matéria orgânica, fornecendo maior quantidade de nutrientes para o desenvolvimento da comunidade microbiana.

No tocante à profundidade, de maneira geral, maiores valores de atividade microbiana foram observados na camada superficial (0-10 cm) e menor atividade na profundidade e 20-40 cm em ambos os períodos de coleta. Conforme Mendes *et al.* (2012), a influência da vegetação e dos resíduos orgânicos depositados no solo a longo prazo, é mais acentuada na superfície do solo, o que influencia fortemente a composição e a quantidade de microrganismos. À medida que a profundidade aumenta, tal influência diminui fazendo com que as populações de microrganismos se tornem dependentes das características da matriz do solo, uma vez que a disponibilidade de substrato é deduzida.

5.1.1. Arginase

No tocante à enzima arginase no período de setembro/2015, não houve diferença entre os sistemas avaliados e o Cerrado natural com exceção do tratamento sob monocultivo de milho, que apresentou valores muito inferiores aos demais em função da atividade dessa enzima. No período de julho/2016, a enzima teve maior atividade em solo de Cerrado natural e menor atividade nos demais sistemas que não diferiram entre si estatisticamente, além de ter tido aumento de 78% em média na sua atividade. Utida *et al.* (2005), ao analisar a atividade enzimática em diferentes ecossistemas de solo de Cerrado, observou que a maior atividade da arginase foi detectada no solo sob plantio direto, seguido do Cerrado natural e pinus, que não diferiram entre si.

Em situações onde o solo apresenta alto teor de matéria orgânica facilmente decomponível com a relação C/N baixa, que é o caso da maioria dos sistemas analisados neste trabalho, a arginina, substrato da arginase, pode estar sendo usada como fonte de C pela biomassa microbiana (Alef & Kleiner 1987). Segundo os mesmos autores, nestes casos a atividade da arginase é menor pela falta do substrato, mesmo que a população aumente de tamanho ou a atividade metabólica das células esteja alta, e em solos onde a matéria orgânica é abundante e tem relação C/N alta (monocultivo de milho), o N liberado pela reação da enzima pode estar sendo assimilado pela microbiota antes de ser detectado na determinação do amônio, resultando novamente em baixa atividade da enzima. Por esses motivos a arginase deve ser estudada juntamente com outros parâmetros microbiológicos e bioquímicos podendo fornecer informações sobre o status do N no solo (Alef & Kleiner 1987).

Sobre o efeito das profundidades, a arginase apresentou maior atividade na camada de 0-10 cm. De modo similar, maiores valores de atividade enzimática na camada superficial do solo, também foram verificados por Garcia & Nahas (2007) e Mendes *et al.* (2012), onde os autores afirmam que o acúmulo de matéria orgânica nas camadas superficiais do solo propicia o aumento das atividades microbianas. De modo geral, a atividade da arginase é dependente de população microbiana metabolicamente ativa e catalisa a degradação da arginina no solo, liberando amônio (NH₄), que por sua vez pode ser imobilizado pela comunidade microbiana ou

excretado na solução do solo, e por esse motivo, esse processo tem sido utilizado como medida do N potencialmente mineralizável do solo (Meloni *et al.* 2001).

5.1.2. Urease

Os resultados das análises da atividade da urease quando a comparação foi realizada entre o Cerrado natural e os diferentes sistemas de cultivo, observou-se que nos dois períodos, a atividade da urease foi superior no tratamento referência. Esses resultados corroboram com Carneiro *et al.* (2008b) ao afirmar que o Cerrado natural apresenta os maiores valores para a enzima urease, quando comparados a áreas com culturas anuais, pastagem e Cerrado nativo, o que evidencia a influência do sistema de cultivo e a sensibilidade desse parâmetro como indicador de impacto. Resultado semelhante foi encontrado por Lisboa *et al.* (2012), ao realizar estudos de comparação da atividade dessa enzima entre solos de Cerrado natural, Plantio Direto e Plantio Convencional, e por Roldán *et al.* (2005) ao comparar preparos de solo com um sistema natural. Tais autores observaram ainda que, a atividade da urease na camada superior do solo no Cerrado natural foi superior à de sistemas convencionais, concordando com os resultados encontrados neste trabalho. De modo similar ao verificado por Garcia & Nahas (2007), maiores valores de atividade da urease ocorreram na camada superficial do solo (0-10 cm) no período de seca.

Valores de atividade mais elevados em um ecossistema sem interferência antrópica, como é o caso do Cerrado natural, também foram verificados por Meloni *et al.* (2001) para microrganismos amonificadores e por Zhang *et al.* (2006) para a atividade da urease. Diferente ao encontrado neste trabalho, Carneiro *et al.* (2009) em estudos realizados acerca dos atributos químicos, físicos e biológicos de solos de Cerrado sob diferentes sistemas de cultivo, observaram que, tanto a atividade da urease quanto a fosfatase ácida foram alteradas pelo sistema de cultivo. As atividades destas enzimas foram mais elevadas em áreas sob cultivo de soja em plantio direto e integração agricultura pecuária, quando se comparados a demais áreas estudadas (Carneiro *et al.* 2009; Sousa 2014).

5.1.3. Fosfatases

Ao comparar o solo dos sistemas de cultivo com o solo sob Cerrado natural nos dois períodos de coleta, observou-se que a maior atividade da fosfatase ácida ocorreu em julho/2016, período considerado como fim da estação chuvosa, apresentando aumento de 290% em relação a setembro/2015, e no período úmido, o solo sob Cerrado natural apresentou atividade enzimática maior que os demais sistemas de cultivo que não diferiram estatisticamente entre si. Segundo Álvares *et al.* (1995), o aumento da temperatura e da umidade do solo aumenta o nível de atividade microbiana. No período de setembro/2015, considerado como final da estação seca, os diferentes sistemas de cultivo e Cerrado natural não apresentaram diferença estatística. Resultados semelhantes foram encontrados por Silva *et al.* (2005) onde a atividade da fosfatase ácida foi maior em áreas agrícolas, florestais e de pastagem no período da chuva e menores na seca. Segundo Scatena (2001), a fosfatase ácida, que é regulada principalmente por fatores químicos do solo, tem sua atividade aumentada na estação chuvosa em função da umidade do solo que cria um ambiente mais favorável para o crescimento microbiano e de plantas, aumentando a demanda de P.

Diversos trabalhos têm demonstrado que as fosfatases têm sua atividade aumentada em ambientes preservados, em relação aos cultivados (Nunes 2003; Carneiro *et al.* 2008; Jakelaitis *et al.* 2008). Resultados diferentes foram relatados por Carneiro *et al.* (2008a) que encontraram baixa atividade da fosfatase ácida em solo de Cerrado natural e maior nas demais áreas estudadas.

Com relação à fosfatase alcalina, tal enzima apresentou comportamento similar, tanto entre os diversos sistemas avaliados e as épocas de coleta, não diferindo estatisticamente entre si. Resultados diferentes foram observados por Jakelaitis *et al.* (2008), onde a atividade da fosfatase alcalina diferiu significativamente entre solo sob mata, pastagens e em áreas cultivadas. Com relação ao efeito das profundidades sobre a atividade houve diferença significativa ($p < 0,01$) para ambas as enzimas, apresentando maior atividade na camada superficial (0-10 cm) e menor na camada mais profunda (20-40 cm). Segundo Bandick & Dick (1999), a atividade microbiana da camada 0-10 cm aumenta em função do maior acúmulo de matéria orgânica na superfície do solo. Resultados semelhantes foram encontrados por Souza (2014),

onde os diversos sistemas de manejo do solo modificaram a atividade enzimática, sobretudo nas camadas superficiais. Ferreira *et al.* (2017) e Green *et al.* (2007) ao observar resultados semelhantes aos deste trabalho, afirmaram que solos sob sistemas conservacionistas, como o Plantio Direto, podem aumentar os valores de atividade enzimática nas camadas superficiais (0-5 cm), contudo, em camadas mais profundas diferenças entre sistemas convencionais e conservacionistas podem não ser encontradas.

5.1.4. β -glicosidase

No tocante à atividade da enzima β -glicosidase, não houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre os sistemas de cultivo, em ambos os períodos avaliados. Resultados opostos foram observados por Silva *et al.* (2005) em estudo realizado em áreas agrícolas, florestais e pastagem, onde a atividade da β -glicosidase diferiu significativamente entre as áreas avaliadas tanto no período seco quanto no chuvoso.

Resultados diferentes também foram encontrados por Ferreira *et al.* (2017) ao afirmarem que a atividade da β -glicosidase foi maior em solos com mata nativa, ao compará-lo com solos sob Plantio Direto e Plantio Convencional. Bandick & Dick (1999) também encontraram resultados opostos aos observados neste trabalho ao afirmarem que a atividade de algumas enzimas no solo, como a β -glicosidase, tem se mostrado maior em solos preservados que em solos cultivados e, também, em solos submetidos rotação de culturas, relativamente aos monocultivos. Souza (2011) também encontrou valores para a β -glicosidase em solos sob Plantio Direto maiores que em Cerrado nativo.

Ao comparar a atividade da β -glicosidase entre as duas épocas de coleta, observou-se que, embora não tenha ocorrido diferença estatística entre os tratamentos em nenhuma das épocas, em julho/2016 a atividade da enzima foi 22% maior que a observada em setembro/2015. De acordo com Cleveland *et al.* (2004), a atividade da β -glicosidase aumenta na estação chuvosa, porque a disponibilidade do substrato é maior devido à decomposição da palhada acumulada no solo durante a estação seca. Tal fato também pode ser explicado por Bending *et al.* (2002), ao afirmarem que a atividade da maioria das enzimas cresce à medida que aumenta o

conteúdo de matéria orgânica do solo. Carvalho *et al.* (2010) afirma que a maior cobertura do solo decorrente do acúmulo de resíduos vegetais na superfície dos solos de áreas conservadas e sem manejo, favorece a manutenção de maior conteúdo de água no solo e maior estoque de C e N, que estimulam a atividade da microbiota.

5.2 DIVERSIDADE METABÓLICA DO SOLO

Em relação à diversidade funcional dos microrganismos estimada através das placas Biolog, foi possível verificar que a atividade de utilização do substrato (AWCD) aumenta linearmente de acordo com o tempo de incubação e com a quantidade de umidade presente na amostra. Mudanças no perfil funcional em relação a atividade AWCD, podem ser explicadas pela diversidade genética, efeitos ambientais nas expressões gênicas e nas interações ecológicas entres diferentes populações (Zak *et al.* 1994).

5.2.1 Atividade total (AT)

A Atividade Total não apresentou diferença estatística entre os sistemas de cultivo no período de setembro/2015, considerado como final do período de seca. As amostras coletadas em julho/2016, final da estação chuvosa, apresentaram diferença estatística entre os sistemas de cultivo, com aumento na Atividade Total de aproximadamente 214% em comparação ao período anterior. Maiores valores para AT foram encontrados em solos sob rotação anual entre a soja e o consórcio de milho e pastagem no período úmido. Os resultados observados neste trabalho diferem dos encontrados por Souza (2005), que relatou maiores valores de diversidade funcional e de Atividade Total em solos de Cerrado natural ao compará-los com solos sob plantio convencional. Tal fato pode ser explicado por Carneiro *et al.* (2007) ao afirmarem que maiores valores para a Atividade Total são encontrados em comunidades com maior população bacteriana e com células metabolicamente mais ativas.

De acordo com Souza *et al.* (2012), o aumento na Atividade Total no período de julho/2016 tem relação com o teor de umidade do solo, o que propicia o aporte da população microbiana, que por consequência, tende a expressar maiores valores para a atividade. De acordo com Quesada *et al.* (2004) e Braga (2015), o maior consumo dos substratos das placas durante o período úmido, provavelmente se dá pelo acréscimo da densidade microbiana afetada pelo aumento da disponibilidade de água superficial, consequência da marcada sazonalidade da área. Os resultados deste trabalho corroboram com Bresolin *et al.* (2010), que em área de Cerrado nativo, registraram redução da comunidade microbiana no período seco devido às mudanças no pH do solo e ao conteúdo gravimétrico de água.

5.2.2 Riqueza de Substrato

Para a riqueza de substrato que demonstra o número de espécies encontrada no ambiente, observou-se diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes sistemas de cultivo de grãos e forragem em ambas as épocas de coleta. Em setembro/2015, a maior riqueza de substrato foi vista em solo sob rotação anual de consórcio de milho e *B. brizantha* e a pastagem (7 – cons./past.), e menor valor em solo sob o monocultivo de pastagem e também em solo onde houve a rotação anual entre a pastagem e o consórcio (8 – past./cons.). Estes resultados corroboram com Souza *et al.* (2012), que encontraram maior riqueza de substratos (S) em solos cultivados ao compará-los a solos de vegetação nativa.

Ao comparar as duas épocas, observou-se que houve aumento de 75% no número de espécies de microrganismos no solo coletado em julho/2016, apresentando maior riqueza de substrato nos solos sob a rotação anual entre cons./soja e past./cons., e sob rotação de consórcio e pastagem em 2 anos. Menor riqueza de substrato foi observada em solo sob o monocultivo de soja. Resultados semelhantes foram observados por Buyer *et al.* (1997) ao comparar o padrão de utilização de substratos de C por comunidades microbianas em sistemas de cultivos orgânicos e convencionais, onde observou-se valores de metabolismo heterotrófico médio significativamente maiores em solos sob cultivo orgânico, sobretudo onde há incorporação da palhada.

5.2.3 Índice de Shannon

De maneira geral, os dois períodos de coleta apresentaram diferenças estatísticas entre os sistemas de cultivo e o Cerrado natural. Em setembro/2015, o valor de índice de diversidade foi maior no solo sob rotação anual de consórcio e pastagem, e menor em solo sob o monocultivo de pastagem. Já em julho/2016, considerado como final da época úmida, maiores valores para índice de diversidade nos solos sob rotação anual entre a soja e consórcio de milho e pastagem, e em solo sob rotação de 2 anos de pastagem e consórcio. Resultados similares foram encontrados por Carneiro *et al.* (2007), ao observar um maior fluxo de carbono nos ecossistemas de Plantio Direto, e por Souza *et al.* (2012), que observaram maior índice de diversidade de Shannon (H) em solos cultivados em comparação a solos de vegetação nativa. Não houve diferença significativa ($p > 0,01$) entre todos os sistemas avaliados e o Cerrado em nenhum dos períodos de coleta, com exceção do monocultivo de soja, o que pode indicar que os mesmos não afetam a diversidade da microbiota do solo.

As variações na diversidade de microrganismos podem ser relacionadas a fatores como a diversidade vegetal de cada área e as características químicas (pH e teores de nutrientes) e físicas (porosidade, estabilidade de agregados e estrutura) de cada solo (Souza *et al.* 2012).

5.2.4 Equidade

Em relação à equidade, não foi detectada diferença significativa ($p < 0,01$) entre os sistemas de cultivo em setembro/2015. Já em julho/2016, apenas o solo sob monocultivo de soja diferiu significativamente dentre os sistemas de cultivo e Cerrado. De maneira geral, a equidade se apresentou de forma similar em ambos os períodos de coleta e sistemas de cultivo de forragem e grãos, o que pode indicar que não há um grupo de microrganismos que usa um determinado substrato de forma predominante em nenhuma das áreas. Assim, todos os grupos de microrganismos participam na mesma proporção em todos os sistemas. Resultados opostos foram

observados por Carneiro *et al.* (2007), ao detectar diferença significativa entre ecossistemas, observando-se maior a uniformidade na distribuição dos substratos utilizados nos ambientes que apresentaram maior índice de diversidade (H), como o sistema de plantio direto e o Cerrado natural.

6. CONCLUSÃO

Os sistemas de cultivo provocaram alterações na atividade microbiana do solo quando comparados com a condição preservada do ambiente de Cerrado natural.

Sistemas de cultivo em que sua comunidade microbiana é pouco perturbada, apresentam grande estabilidade, contribuindo para maior sustentabilidade e conservação do solo.

A diversidade funcional microbiana foi maior no período de julho/2016 em comparação ao período de setembro/2015.

Os índices de atividade microbiana são maiores nas camadas superficiais (0-10 cm) em função do aporte de matéria orgânica oriundos dos resíduos vegetais depositados no solo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA-MARTINEZ, V. & TABATABAI, M.A. Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol. Fert. Soils*, 31:85-91, 2000.
- ALEF, K. & KLEINER, D. Arginine ammonification, a simple method to estimate microbial activity potentials in soils. *Soil Biology and Biochemistry*. v. 18, nº 2: 233-235, 1986.
- ALEF, K & KLEINER, D. Estimation of anaerobic microbial activities in soils by arginine-ammonification and glucose – dependent CO₂ production. *Soil Biology and Biochemistry* v.19: 683-686, 1987.
- ALMEIDA, D. O.; BAYER, C.; ALMEIDA, H. C. Fauna e atributos microbiológicos de um Argissolo sob sistemas de cobertura no Sul do Brasil. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v.51, n.9, p.1140-1147, set. 2016.
- ÁLVARES, R.; DÍAZ, R. A.; BARBERO, N.; SANTANATOGLIA, O. J.; BLOTTA, L. Soil organic carbon, microbial biomass and CO₂-C production from three tillage system. *Soil and Tillage Research*, v. 33, n. 1, p. 17-28, 1995.
- ALVES, F. V.; LAURA, V. A.; ALMEIDA, R. G. de. *Sistemas agroflorestais: a agropecuária sustentável*. Brasília: Embrapa, 2015. 208 p.
- ANDREWS, R. K.; BLAKERLEY, R. L.; ZERNER, B. Urease: a Ni (II) metalloenzyme. In: LANCASTER, J. R. (Ed.). *The biorganic chemistry of nickel*. New York: VCH Publisher, 1989. p. 141-166.
- AON, M.A.; CABELLO, M.N.; SARENA, D.E.; COLANERI, A.C.; FRANCO, M.G.; BURGOS, J.L; CORTASSA, S. I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, Amsterdam, v.18, n.3, p.239-254, 2001.

- ATLAS, R. M. Diversity of microbial communities. In: Marshall K. C. (ed) *Advances in Microbial Ecology*, Plenum Press, Nova Iorque, v. 7, p.1–47, 1984.
- BALBINO, L. C.; CORDEIRO, L. A. M.; PORFIRIO-DA-SILVA, V.; MORAES, A.; MARTÍNEZ, G. B.; ALVARENGA, R. C.; KICHEL, A. N.; FONTANELI, R. S.; SANTOS, H. P.; FRANCHINI, J. C.; GALERANI, P. R. Evolução tecnológica e arranjos produtivos de sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 46, n. 10, p. i-xii, out. 2011.
- BALOTA, E. L.; NOGUEIRA, M. A.; MENDES, I. C.; HUNGRIA, M.; FAGOTTI, D. S. L.; MELO, G. M. P.; SOUZA, R. C.; MELO, W. J. de. Enzimas e seu papel na qualidade do solo. *Tópicos Ci. Solo*, 8:221-278, 2013.
- BANDICK, A.K. & DICK, R.P. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biol. Biochem*, 31:1471-1479, 1999.
- BENDING, G.D.; TURNER, M.K.; JONES, J.E. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and functional diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, v.34, p.1073-1082, 2002.
- BENDING, G. D.; TURNER, M. K.; RAYNS, F; MARX, M. C.; WOOD, M. Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.36, n. 11, p. 1785-1792, Nov. 2004.
- BONDE, T. A.; MILLER, T. H. N. M.; S. J. Arginine ammonification assay as a rapid index of gross N mineralization in agricultural soils. *Biol Fertil Soils*. v 34, p.179-184. 2001.
- BRANDÃO, F. S.; CEOLIN, A. C.; RUVIARO, C. F.; GIANEZINI, M.; DIAS, E. A. O papel do agronegócio brasileiro na redução de emissão de gases de efeito estufa (GEES). *Revista Agro@mbiente On-line*, v. 6, n. 1, p. 84-90, janeiro-abril, 2012.

- BURNS, R. G. Enzyme-activity in soil - location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 14, p. 423-427, 1982.
- BUYER, J. S.; DRINKWATER, L. R. Comparison of substrate utilization assay and fatty acid analysis of soil microbial communities. *Journal of Microbiological Methods*, v. 30, p. 3-11, 1997.
- CALAZANS, G. M.; WILDA, L. R. M.; NUNES, T.; MOREIRA, J. A. A.; FILHO, I. A. P.; CRUZ, J. C.; VIANA, J. H. M.; OLIVEIRA, M. F.; MARRIEL, I. E. Distribuição da atividade da urease em agregados do solo de Cerrado sob diferentes sistemas de manejo. XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Goiânia. 2010.
- CARNEIRO, M. A. C.; ASSIS, P. C. R.; MELO, L. B. de C.; PEREIRA, H. S.; PAULINO, H. B.; SILVEIRA NETO, A. N. Atributos bioquímicos em dois solos de cerrado sob diferentes sistemas de manejo e uso. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 38, n. 4, p. 276-283, 2008a.
- CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; SOARES, A. L. L. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa e atividade microbiana do solo em duas cronossequências de reabilitação após a mineração de bauxita. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, p. 621-632, 2008b.
- CARNEIRO, M. A. C.; SOUZA, E. D.; REIS, E. F.; PEREIRA, H. S.; AZEVEDO, W. R. Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 33, n. 1, p. 147-157, 2009.
- CARNEIRO, M. A. C.; SOUZA, E. D.; PAULINO, H. B.; SALES, L. E. O.; VILELA, L. A. F. Atributos indicadores de qualidade em solos de cerrado no entorno do Parque Nacional das Emas, Goiás = Attributes quality indicators in cerrado soils surrounding the Parque Nacional das Emas, state of Goiás, Brazil. *Bioscience Journal*, v. 29, ed. 6, 2013.

- CARVALHO, J. L. N.; RAUCCI, G. S.; CERRI, C. E. P.; BERBOUX, M.; FEIGL, B. J.; WRUCK, F. J.; CERRI, C. C. Impact of pasture, agriculture and crop-livestock systems on soil C stocks in Brazil. *Soil and Tillage Research*, Amsterdam, v. 110, n. 1, p. 175–186, 2010.
- CARVALHO, N. da S. Propriedades microbiológicas do solo ao longo de um gradiente vegetacional de Cerrado no Parque Nacional de Sete Cidades. 2016. 48 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.
- CASTRO, G. H. de F.; MAURÍCIO, R. M.; SCARDUA, F.P . Desafios da produção animal diante os efeitos das mudanças climáticas. In: Solange Teles da Silva; Sandra Cureau; Marcia Leuzinger. (Org.). *Mudança do Clima - Desafios jurídicos*, 1 ed. São Paulo: Fiuza, 2011, v. 1, p. 132-160.
- CONTE, E.; ANGHINONI, I.; RHEINHEIMER, D. S. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatase ácida após aplicação de fosfato em solo no sistema plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 26:925-930, 2002.
- CORDEIRO, L. A. M.; VILELA, L.; MARCHÃO, R. L.; KLUTHCOUSKI, J.; MARTHA JÚNIOR, G. B. Integração lavoura-pecuária e integração lavoura-pecuária-floresta. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, Brasília, v. 32, n. 1/2, p. 15-43, jan./ago. 2015a.
- CORDEIRO, L. A. M.; BALBINO, L. C.; GALERANI, P. R.; DOMIT, L. A.; SILVA, P. C.; KLUTHCOUSKI, J.; VILELA, L.; MARCHÃO, R. L.; SKORUPA, L. A.; WRUCK, F. J. Transferência de Tecnologias para Adoção da Estratégia de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta. In: CORDEIRO, L. A. M.; VILELA, L.; KLUTHCOUSKI, J.; MARCHÃO, R. L. (Ed.). *Integração Lavoura-Pecuária-Floresta: o produtor pergunta, a Embrapa responde*. Brasília, DF: Embrapa, p. 377-393. 2015b.
- DAROIT, D. J. Caracterização de uma Beta-glicosidase de *Monascus purpureus*. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia agrícola e do Ambiente) –

Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2007.

DICK, R. P.; BREACKWELL, D. P.; TURCO, R. F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, J. W.; JONES, A. J. Methods for assessing soil quality. Madison: SSSA, 1996. p. 247-271.

DILLY, O.; MUNCH, J.C. Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils. *Biol. Fert. Soils*, 27:374-379, 1998.

DORAN, J.W. & PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W. & COEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F & STEWART, B.A., eds. Defining soil quality for sustainable environment. Madison, Soil Science Society of America, 1994. p.3-21.

DORAN, J.W. & ZEISS, M.R. Soil health and sustainability; Managing the biotic component of soil quality. *Appl. Soil Ecol.*, 15:3-11, 2000.

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

EIVAZI, F., TABATABAI, M. A. Glucosidases and agalactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 20, p. 601–606, 1988.

EMBRAPA MEIO AMBIENTE. 2008. Agricultura e efeito estufa. Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/projetos/index.php3?sec=agrog:::85>>. Acesso em: 20 mar. 2017.

EMBRAPA TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA. Arranjos possíveis do sistema integração lavoura, pecuária e floresta serão demonstrados na Agrishow. 2013. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1490157/arranjos-possiveis-do-sistema-integracao-lavoura-pecuaria-e-floresta-serao-demonstrados-na-agrishow>>. Acesso em: 02 jan. 2017.

- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. Rio de Janeiro, 2006. 306p.
- EPELDE, L. *et al.* Microbial properties and attributes of ecological relevance for soil quality monitoring during a chemical stabilization field study. *Applied Soil Ecology*, v. 75, p. 1-12, 2014.
- FERREIRA, E. P. de B.; STONE, L. F.; MARTIN-DIDONET, C. C. G. População e atividade microbiana do solo em sistema agroecológico de produção. *Revista de Ciências Agrônômicas*, v. 48, n. 1, p. 22-31, jan-mar, 2017.
- GARCIA, M.R.L.; NAHAS, E. Biomassa e atividades microbianas em solo sob pastagem com diferentes lotações de ovinos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 31, p.269-276, 2007.
- GARLAND J.L., MILLS A.L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57: 2351–2359, 1991.
- GIL-SOTRES, F.; CEPEDA-TRASAR, C.; LEIRÓS, M. C.; SEOANE, S. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 37, p. 877-887, 2005.
- GREEN, V.S.; STOTT, D.E.; CRUZ, J.C. & CURI, N. Tillage impacts on soil biological activity and aggregation in a Brazilian Cerrado Oxisol. *Soil Till. Res.*, 92:114-121, 2007.
- HARASIM, E.; GAWEDA, D.; WESOLOWSKI, M.; KWIATKOWSKI, C.; GOCOL, M. Cover cropping influences physico-chemical soil properties under direct drilling soybean. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil and Plant Science*, v.66, p.85-94, 2016.

- HERNANI, L. C.; FREITAS, P. L. de; PRUSKI, F. F.; DE MARIA, I. C.; CASTRO FILHO, C. de; LANDERS, J. N. A erosão e o seu impacto. In: MANZATTO, C. V.; FREITAS JUNIOR, E. de; PERES, J. R. R. (Ed.). Uso agrícola dos solos brasileiros. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002. p. 47-60.
- HIBBS, J. B.; TAINTOR, R. R.; VAVRIN, Z. and RACHLIN, E. M. Nitric oxide: A cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157, 87. 1988.
- IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change. Publications and Data, 2009. Disponível em: <http://www.ipcc.ch/>. Acesso em: mar. 2017
- JAKELAITIS, A.; SILVA, A.A.; SANTOS, J.B.; VIVIAN, R. Qualidade da camada superficial de solo sob mata, pastagens e áreas cultivadas. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 38:118-127, 2008.
- K. A., *et al.* Navigating the Numbers: greenhouse gas data and international climate policy. World Resources Institute. 2005. Disponível em: <http://pdf.wri.org/navigating_numbers.pdf>. Acesso em: mar. 2017.
- KANDELER, E.; GERBER, H. Short term assay of soil urease activity using colorimetric determination ammonium. *Boil. Fert. Soils*, 6: 68-72, 1988.
- KANDELER, E.; TSCHERKO, D. & SPIEGEL, H. Long-term monitoring of microbial biomass, N mineralization and enzyme activities of a Chernozem under different tillage management. *Biol. Fert. Soils*, 28:343-351, 1999.
- KENNEDY, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v. 74, n. 1, p. 65-76, 1999.
- KENNEDY, A. C. ;SMITH, K. L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and Soil*, v.170, p. 75-86, 1995.

KICHEL, A. N.; MIRANDA, C. H. B. Integração lavoura-pecuária: sustentabilidade da agropecuária. 2005. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/protilp/sustentabilidadeagropecuaria.pdf>>. Acesso em: 09 fev. 2017.

KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F. Manejo Sustentável dos Solos dos Cerrados. In: KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F.; AIDAR, H. (Ed.). Integração Lavoura-Pecuária. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. p. 59-104.

LI, M.; CHENG, X.; GUO, H. Heavy metal removal by biomineralization of urease producing bacteria isolated from soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, Elsevier, Amsterdam, v. 76, p. 81-85, 2013.

LISBOA, B. B.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, A. O. D.; MARTINS, A. F.; SELBACH, P. A. Indicadores microbianos de qualidade do solo em diferentes sistemas de manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, G, v. 36, n. 1, p. 33-43, 2012.

LOPES, A. A. C. Interpretação de indicadores microbiológicos em função da matéria orgânica do solo e dos rendimentos de soja e milho. 2012. 96 p. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. Brasília, 2012.

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

MACEDO, M. C. M. CLFIS: an overview of the brazilian experience. In: World congress on integrated Crop-Livestock-Forest system, 1.; International symposium on integrated Crop-Livestock Systems, 3. 2015, Brasília, DF. Proceedings... Brasília, DF: Embrapa, 2015. p. 33.

- MACHADO, Vanessa Júnia. Application of fertilizers with different technologies: NH₃ volatilization. 2015. 74 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.
- MAKOI, J. H. J. R.; NDAKIDEMI. Selected soil enzymes: Examples of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (3), p. 181–191, 2008.
- MATSUOKA, M.; MENDES, I.C.; LOUREIRO, M.F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.27, p.425-434, 2003.
- MCDANIEL, M. D; KAYE, J. P; KAYE, M. W. Increased temperature and precipitation had limited effects on soil extracellular enzyme activities in a post-harvest forest. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 56, p. 90-98, 2013.
- MEGDA, M. M. Formas de nitrogênio e doses de potássio no capim-marandu: atributos morfológicos, produtivos, nutricionais e bioquímicos e transformações do nitrogênio em um Neossolo. 2013. 119 p. Tese de Doutorado – Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba. 2013.
- MELO, W.J.; MELO, G.M.P.; ARAÚJO, A.S.F. & MELO, V.P. Avaliação da atividade enzimática em amostras de solo. In: FIGUEIREDO, M.V.B.; BURITY, H.A.; OLIVEIRA, J.P.; SANTOS, C.E.R.S. & STAMFORD, N.P., eds. *Biotechnology aplicada à agricultura: Texto de apoio e protocolos experimentais*. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica/Recife, Instituto Agrônomo de Pernambuco, 2010. p.153-187.
- MENDES, I. C.; FERNANDES, M. F.; CHAER, G. M.; JUNIOR, F. B. R. Biological functioning of Brazilian Cerrado soils under different vegetation types. *Plant Soil*, v. 359. p. 183-195, 2012.

- MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B. Bioindicadores de qualidade de solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, Brasília, v. 32, n. 1/2, p. 185-203, jan./ago. 2015.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA); MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO AGRÁRIO (MDA). Plano Setorial de Mitigação e de Adaptação às Mudanças Climáticas para a Consolidação de uma Economia de Baixa Emissão de Carbono na Agricultura. Plano ABC (Agricultura de Baixa Emissão de Carbono). Brasília: MAPA / MDA, 2012.
- MINISTÉRIO DE MEIO AMBIENTE (MMA). Planos Setoriais de Mitigação e Adaptação. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/clima/politica-nacional-sobre-mudanca-do-clima/planos-setoriais-de-mitigacao-e-adaptacao>>. Acesso em: mar. 2017.
- MONCADA, S., PALMER, R. M. J. and HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmaeol. Rev.* 43, 109. 1991.
- MORAIS, F. A. de. Disponibilidade e imobilização microbiana de fósforo no solo com aplicações de fertilizantes minerais e organomineral. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Manejo de Solo) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages. 2013.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e Bioquímica do solo*. 2. ed. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2006. p. 729.
- MURPHY, D. V.; SPARLING, G. P; FILLERY, I. R. P. Stratification of microbial biomass C and N and gross N mineralization with soil depth in two contrasting Western Australian agricultural soils. *Aust J Soils Res* 36:45-55. 1988.
- NANNIPIERI, P.; JOHNSON, R.L. & PAUL, E.A. Criteria for measurement of microbial growth and activity in soil. *Soil Biol. Biochem*, 10:223-229, 1978.

- NARDOTO G. B.; BUSTAMANTE M. M. C. Effects of fire on soil nitrogen dynamics and microbial biomass in savannas of Central Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v. 38, n. 8, p. 955 - 962, 2003.
- NUNES, L. A. P. L. Qualidade de um solo cultivado com café e sob mata secundária no município de Viçosa-MG. 2003. 102p. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2003.
- PEIXOTO, R. S.; CHAER, G. M.; FRANCO, N.; REIS JUNIOR, F. B. dos; MENDES, I. C.; ROSADO, A. S. A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 98, n. 3, p. 403-413, Oct. 2010.
- PEZARICO, C. R. Indicadores de qualidade em sistemas Agroflorestais. 2009. 67 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2009.
- ROLDÁN, A.; SALINAS-GARCIA, J. R.; ALGUACIL, M. M.; DÍAZ, E. & CARAVACA, F. Soil enzyme activities suggest advantages of conservation tillages practices in sorghum cultivation under subtropical conditions. *Geoderma*, 129:178—185, 2005.
- ROSSELÓ-MORA, R.; AMANN, R. The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiology Review*, Amsterdam, v. 25, n. 1, p. 39-67, 2001.
- SALTON, J. C.; OLIVEIRA, P.; TOMAZI, M.; RICHETTI, A.; BALBINO, L. C.; FLUMIGNAM, D.; MERCANTE, F.M .; MARCHÃO, R. L.; CONCENÇO, G.; SCORZA JUNIOR, R. P.; ASMUS, G. L. Benefícios da adoção da estratégia de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta. In: CORDEIRO, L. A. M.; VILELA, L.; KLUTHCOUSKI, J.; MARCHÃO, R. L. (Ed.). *Integração Lavoura-Pecuária-Floresta: o produtor pergunta, a Embrapa responde*. Brasília, DF: Embrapa, 2015. p. 35-51

- SANTOS, F. A. S.; MARIANO, R. S. R.; PIERANGELI, M. A. P.; SOUZA, C. A.; BAMPI, A. C. Atributos químicos e físicos de solos das margens do Rio Paraguai. *Ambi-Água*, Taubaté, v. 8, n. 1, p. 239-249, 2013.
- SILVA, M. A. S. da; MAFRA, A. L.; ALBUQUERQUE, J. A.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Atributos físicos do solo relacionados ao armazenamento de água em um Argissolo Vermelho sob diferentes sistemas de preparo. *Ciência Rural*, v.35, p.544-552, 2005.
- SILVA, M. M. Papel de ureases na nodulação de glycine max por *Bradyrhizobium japonicum*. 2012. Tese (Doutorado em Biologia Celular e molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, [S.l.], 2012 (a).
- SILVA, M. P. dos S. Isolamento e caracterização de bactérias produtoras de compostos ativos de superfície a partir de biopilhas para o tratamento de resíduos oleosos. 2012. 101 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2012 (b).
- SILVEIRA, P. M.; STONE, L. F. Plantas de cobertura de solos do cerrado. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2010. 13 e 149 p.
- SINSABAUGH, R.; ANTIBUS, R.; LINKINS, A.; MCCLAUGHERTY, C.; RAYBURN, L.; REPERT, D.; WEILAND, T. Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity. *Ecol* 74:1586–1593. 1993.
- SKUJINS, J. Enzymes in soil. In: McLAREN, A.D. & PETERSON, G.H., eds. *Soil biochemistry*. New York, Marcel Dekker, 1967. p.371-414.
- SOUSA, H. M. Atributos microbiológicos do solo em sistemas de integração Lavoura-Pecuária no Ecótono Cerrado-Amazônia. 2014. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá. 2014.

- SOUZA, L. M. de. Atributos químicos, físicos e biológicos, estrutura de comunidades bacterianas e qualidade de solos de cerrado sob plantio direto e preparo convencional. 2011. xix,183 f., il. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade de Brasília, Brasília, 2011.
- SOUZA, L. M. de; SCHLEMMER, F.; ALENCAR, P. M.; LOPES, A. A. C.; PASSOS, S. R.; XAVIER, G. R.; FERNANDES, M. F.; MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B. Estrutura metabólica e genética de comunidades bacterianas em solo de cerrado sob diferentes manejos. Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v.47, n.2, fev. 2012.
- STEVENSON, F. J. Organic forms of soil nitrogen. In: Nitrogen in Agricultural Soils. American Society of Agronomy, Madison, 1982.
- TABATABAI, M. A. Soil Enzymes. In: Methods of soil analysis: part 2: microbiological and biochemical properties. Madison: SSS. Ap.775 – 833, 1994.
- UNEP - United Nations Environment Programme. CCCC Kick the habit: A Un Guide to Climate Neutrality. 2008. Disponível em:<<http://pt.scribd.com/doc/15071121/Kick-the-Habit-Neutrally-A-UN-Guide-to-CCCC>>. Acesso em: mar. 2017.
- UTIDA, M. K.; MONTEIRO, G. G.; SCOTTI, M. R.; SÁ, N. M. D. de; OLIVEIRA, A. C.; MARRIEL, I. E. Atividade enzimática e diversidade funcional da microbiota de cinco ecossistemas em um solo de Cerrado. Embrapa Milho e Sorgo, 2005.
- VALLEJO, V.E.; ROLDAN, F. & DICK, R.P. Soil enzymatic activities and microbial biomass in an integrated agroforestry chronosequence compared to monoculture and a native forest of Colombia. Biol. Fert. Soils, 46:577-587, 2010.
- ZAK, J.C., WILLIG, M.R., MOORHEAD, D.L., WILDMAN, H.G. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. Soil Biol. Biochem. 26, 1101–1108. 1994.

ZHANG, P.; LI, L.; PAN, G.; REN, J. Soil quality changes in land degradation as indicated by soil chemical, biochemical and microbiological properties in a karst area of southwest Guizhou, China. *Environmental Geology*, v.51, p. 609-619. 2006.

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

WALLENSTEIN, M. D.; WEINTRAUB, M. N. Emerging tools for measuring and modeling the in situ activity of soil extracellular enzymes. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 40, p. 2098-2106, 2008.

WITTE, C. P. Urea metabolism in plants. *Plant Science, Clare*, v. 180, p. 431-438, 2011.