

## **Bioindicadores para a avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade?**

Ieda de Carvalho Mendes<sup>(1)</sup>; Mariangela Hungria<sup>(2)</sup>; Fábio Bueno dos Reis-Junior<sup>(1)</sup>, Marcelo Ferreira Fernandes<sup>(3)</sup>; Guilherme Montandon Chaer<sup>(4)</sup>; Fábio Martins Mercante<sup>(5)</sup>; Jerri Édson Zilli<sup>(6)</sup>

### **1- Qualidade do Solo e Bioindicadores**

Pesquisadores e a sociedade, de uma maneira geral, estão bastante familiarizados com os conceitos de qualidade da água e do ar, e de como o uso inadequado desses recursos pode afetar a saúde humana e o meio ambiente. Entretanto, a despeito da importância do solo para a humanidade, como base para todo o sistema de produção alimentar, de fibras e de agroenergia o interesse pelo tema "**Qualidade de solo**" é relativamente recente, datando do fim da década de 1980 e início da década de 1990. De acordo com Doran & Parkin (1994), qualidade do solo seria a sua capacidade de funcionar dentro dos limites dos ecossistemas para: *i*) sustentar a produtividade biológica; *ii*) manter a qualidade da água e do ar e *iii*) promover a saúde humana, de plantas e animais. Ou seja, além da importância do solo para a produção de alimentos, o conceito de qualidade do solo também destaca a importância desse recurso para o funcionamento global dos ecossistemas.

Embora haja consenso entre pesquisadores e agricultores de que a manutenção/melhoria da qualidade do solo é um elemento chave para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas, a avaliação dessa qualidade não é uma tarefa fácil. A multiplicidade de fatores químicos, físicos e biológicos que controlam os processos biogeoquímicos e suas variações em função do tempo e espaço, aliados à complexidade do solo, estão entre os fatores que dificultam a capacidade de acessar a sua qualidade e identificar parâmetros-chaves que possam servir como indicadores do seu funcionamento. Por essa razão, um conjunto mínimo de indicadores englobando atributos físicos, químicos e biológicos devem ser

<sup>1</sup> Embrapa cerrados, [mendes@cpac.embrapa.br](mailto:mendes@cpac.embrapa.br); [fabio@cpac.embrapa.br](mailto:fabio@cpac.embrapa.br);

<sup>2</sup> Embrapa soja, [hungria@cnpso.embrapa.br](mailto:hungria@cnpso.embrapa.br)

<sup>3</sup> Embrapa Tabuleiros Costeiros, [marcelo@cpatc.embrapa.br](mailto:marcelo@cpatc.embrapa.br)

<sup>4</sup> Embrapa Agrobiologia [gchaer@cnpab.embrapa.br](mailto:gchaer@cnpab.embrapa.br)

<sup>5</sup> Embrapa Agropecuária Oeste, [mercante@cpao.embrapa.br](mailto:mercante@cpao.embrapa.br)

<sup>6</sup> Embrapa Roraima, [zilli@cpafr.embrapa.br](mailto:zilli@cpafr.embrapa.br)

utilizados nas análises de qualidade do solo (Doran & Parkin, 1994), uma vez que nenhum indicador individualmente irá descrever e quantificar todos os aspectos da qualidade do solo.

O componente biológico do solo está intimamente relacionado ao seu funcionamento, apresentando uma estreita inter-relação com os componentes físicos e químicos. Os microrganismos do solo são responsáveis por serviços ambientais de importância fundamental, tais como os processos de formação do solo, decomposição de resíduos orgânicos (animais e vegetais), ciclagem de nutrientes e formação da matéria orgânica, biorremediação de poluentes e agrotóxicos, entre outros. A participação dos microrganismos em todos esses processos justifica a inclusão dos indicadores biológicos ou bioindicadores nos índices de qualidade do solo e a necessidade de estudos visando selecionar quais destes indicadores biológicos seriam os mais apropriados para este fim. Como o estabelecimento de diferentes agroecossistemas influencia diretamente a biota do solo e os processos realizados por ela, o uso de bioindicadores emerge como um componente importante dos estudos envolvendo a avaliação da qualidade dos solos agrícolas, devido a sua sensibilidade para detectar, em etapa anterior em comparação a outros parâmetros físicos e químicos, alterações que ocorrem nesse ambiente em função do seu uso e manejo, seja ele mantenedor, melhorador ou degradador da qualidade (Doran, 1980; Dick, 1994; Matsuoka et al. 2003; Silva et al., 2009).

Diferentemente do que ocorre com os indicadores químicos de fertilidade, cujos níveis (muito baixo, baixo, médio, adequado e alto) já estão relativamente bem definidos para cada nutriente e tipo de solo (sempre levando em consideração características como: textura, teor de matéria orgânica, etc.), a base de informações disponível sobre os dados biológicos ainda é muito pequena. Dessa forma as dificuldades na interpretação dos bioindicadores de qualidade, ou seja, de saber quando é que os valores obtidos indicam ou não um bom solo, constituem um dos grandes obstáculos a serem transpostos para o uso dessas variáveis nas avaliações de qualidade do solo (Tótola & Chaer, 2002).

Outro aspecto a ser destacado é que os valores "ideais" para os bioindicadores podem variar conforme o tipo de solo, sistemas de manejo e condições climáticas. Santana & Bahia-Filho (1999) utilizaram o termo limite de sustentabilidade para separar a condição sustentável

da não-sustentável e sugeriram dois enfoques para o estabelecimento de critérios de referências: 1) condição de solo nativo e 2) condições que maximizem a produção e conservem o meio ambiente. Pode-se ainda adotar como referência critérios de variação temporal, quando ocorre o acompanhamento de uma mesma área ao longo do tempo. Nesse caso, os valores determinados para os bioindicadores podem ser monitorados para se avaliar tendências ao longo do tempo. Na realidade, tanto as avaliações comparativas usando as áreas de referências (“comparative assessment”), como as avaliações temporais (“dynamic assessment”) são complementares, pois permitem diferentes escalas de avaliação. Destes critérios de referência, o uso de áreas nativas, com mínimos impactos antropogênicos, têm prevalecido (Dick, 1994; Doran & Parkin, 1994; Trasar-Cepeda et al., 1998; Mendes et al., 2003).

Entre os parâmetros utilizados pela comunidade científica para caracterizar o componente biológico dos solos, destacam-se as avaliações de biomassa, atividade e diversidade microbiana.

A biomassa microbiana do solo (geralmente expressa em  $\mu\text{g}$  de C.  $\text{g}^{-1}$  de solo ou  $\text{mg}$  de C.  $\text{kg}^{-1}$  de solo) é a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo e é constituída, principalmente, por fungos, bactérias e actinomicetos. Apesar da sua importância em relação ao teor total de C orgânico no solo, o tamanho dos componentes vivos da matéria orgânica é relativamente pequeno, variando de 1% a 5% do C orgânico total dos solos (Jenkinson & Ladd, 1981; Smith & Paul, 1990). Como de 99% a 95% da matéria orgânica é constituída por frações mortas, relativamente estáveis e resistentes a alterações, mudanças significativas nessas frações podem levar anos e/ou décadas para serem detectadas (Rice et al., 1996). Por outro lado, alterações significativas na biomassa microbiana podem ser detectadas com maior antecedência quando comparadas a mudanças na matéria orgânica (Powson et al., 1987; Turco et al., 1994), porque a biomassa é a fração mais dinâmica do C orgânico do solo. Por esta razão, a biomassa microbiana tem sido proposta como um indicador do estado e das alterações da matéria orgânica total do solo e sugerida como uma medida sensível do aumento ou decréscimo de sua quantidade. Entre os métodos mais utilizados na determinação da biomassa microbiana no Brasil, destacam-se o de clorofórmio-fumigação-incubação - CFI (Jenkinson & Powlson, 1976) e clorofórmio-fumigação-extração - CFE (Vance et al., 1987),

---

ambos baseados na esterilização parcial (fumigação) de amostras de solos com clorofórmio. No método CFI, a determinação do tamanho da biomassa é feita com base no fluxo de CO<sub>2</sub> liberado das amostras de solo fumigadas e não fumigadas após um período de incubação de 7 a 10 dias. No CFE, essa determinação é feita a partir da extração do C-orgânico das amostras fumigadas e não fumigadas utilizando um extrator fraco como o sulfato de potássio. Maiores informações sobre esses métodos podem ser encontradas em Oliveira et al. (2001), Roscoe et al. (2006), Reis-Junior & Mendes (2007), Brandão-Junior et al. (2008). Na Reunião de Fertilidade e Biologia do Solo (Fertbio), organizada pela Sociedade Brasileira de Ciência do Solo em Lages, SC, em 2004, os pesquisadores que trabalham com o intuito de identificar bioindicadores de qualidade do solo se reuniram e definiram sobre a padronização de algumas condições mínimas entre os laboratórios, visando permitir a construção de uma base nacional de dados. Principalmente pela praticidade, menor tempo e trabalho envolvidos nas análises e boa repetibilidade na maioria dos ensaios, o método CFE foi escolhido, com amostragem de solo na camada de 0-10 cm. Essa decisão visou, também, incentivar a adoção dessa análise em um número maior de laboratórios. O maior desafio a essa metodologia, porém, consistirá em encontrar novos métodos para a análise do C, evitando produtos tóxicos como o dicromato de potássio, uma vez que há uma demanda mundial de análises utilizando uma "química limpa". Para fins de pesquisa, o método CFI continua a ser útil em diversas situações. Finalmente, é de grande importância mencionar que, em qualquer método utilizado, as medidas devem ser feitas sob condições totalmente padronizadas, a fim de permitir a reprodutibilidade e comparação dos resultados.

O quociente microbiano ( $qMIC$ ) é um índice utilizado para fornecer indicações sobre a qualidade da matéria orgânica sendo expresso pela relação entre o C da biomassa microbiana e o C orgânico total. Em circunstâncias de fatores estressantes para os microrganismos (pH, deficiências nutricionais, presença de metais pesados), a capacidade de utilização do C é menor e, conseqüentemente, o  $qMIC$  também diminui (Wardle, 1994). Já com a adição de matéria orgânica de boa qualidade ou com o término de uma situação de estresse, a biomassa aumenta, assim como o  $qMIC$ , mesmo se os teores de C orgânico permanecerem inalterados (Powlson et al., 1987).

Determinações da biomassa microbiana não fornecem indicações sobre os níveis de atividade das populações microbianas do solo, ou seja, podem ocorrer situações em que os

solos apresentem elevadas quantidades de biomassa inativa e vice-versa. Daí a importância das análises que medem a atividade microbiana ou o estado metabólico atual e potencial das comunidades de microrganismos do solo. Dentre esses, destacam-se as determinações do C e N prontamente mineralizáveis e as de atividade enzimática dos solos.

A quantidade de CO<sub>2</sub> liberada pela respiração dos microrganismos (também denominada, C prontamente mineralizável) é um dos métodos mais tradicionais e mais utilizados para avaliar a atividade metabólica da população microbiana do solo (Zibilske, 1994). Da mesma forma que outras atividades metabólicas, a respiração depende do estado fisiológico das células e é influenciada por diferentes fatores tais como a umidade, a temperatura e a disponibilidade de nutrientes. Enquanto os ensaios para determinação da respiração do solo como um todo podem ser realizados no campo, os ensaios para respiração microbiana são comumente realizados em vasos hermeticamente fechados, incubados sob condições controladas de temperatura e umidade em laboratório, utilizando-se uma base (KOH ou NaOH) para capturar o CO<sub>2</sub> que é evoluído do solo. Atualmente, nos EUA, o kit Solvita® produzido pelo Woods End® Research Laboratory, baseado na tecnologia de gel colorimetria, tem sido comercializado para que os próprios agricultores possam avaliar a respiração do solo de uma maneira eficiente, rápida e barata ([www.solvita.co.uk/products/soil-life-test-kit.htm](http://www.solvita.co.uk/products/soil-life-test-kit.htm)).

O quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) é um índice que expressa a relação entre a respiração basal do solo e o tamanho da biomassa microbiana. Esse quociente foi proposto originalmente por Andersom & Domsch (1978) baseado na teoria do desenvolvimento bionergetico dos ecossistemas de Odum (1969). Essa teoria prediz que comunidades microbianas sob estresse (metais pesados, limitações de nutrientes, baixo pH, etc.) ou expostas a qualquer tipo de perturbação (cultivo, queimada, etc.) serão menos eficientes em converter o C assimilado em nova biomassa, pois uma maior parte deste C deverá ser utilizado para fornecer energia (e portanto, respirado como CO<sub>2</sub>) para processos metabólicos necessários à manutenção da homeostase celular. Por conseguinte, sob tais condições de estresse ou distúrbio o qCO<sub>2</sub> será mais elevado quando comparado a ambientes (solos) mais estáveis, ou mais próximos do seu estado de equilíbrio.

As enzimas do solo participam das reações metabólicas intercelulares, responsáveis pelo funcionamento e pela manutenção dos seres vivos e também desempenham papel fundamental atuando como catalizadoras de várias reações que resultam na decomposição de resíduos orgânicos (ligninases, celulasas, proteases, glucosidases, galactosidases), ciclagem de nutrientes (fosfatases, amidases, urease, sulfatase), formação da matéria orgânica e da estrutura do solo (Mendes & Vivaldi, 2001). A atividade enzimática de um solo é o resultado do somatório da atividade enzimática dos organismos vivos (plantas, microrganismos e animais) e das enzimas abiônticas (enzimas associadas à fração não viva, que se acumulam no solo protegidas da ação de proteases através da adsorção em partículas de argila e na matéria orgânica). Os ensaios para determinação da atividade enzimática são simples e rápidos e baseiam-se na adição de substratos específicos para cada tipo de enzima, a uma amostra de solo suspensa em um tampão (Dick et al., 1996). Após um curto período de incubação as amostras são filtradas e é realizada a determinação do produto, por colorimetria. Quanto maior a intensidade da coloração, maior a quantidade de produto formado e, conseqüentemente, maior a atividade enzimática do solo. Como esses ensaios são realizados sob condições ideais de pH, temperatura e disponibilidade de substrato, representam a atividade potencial máxima e não a atividade enzimática real do solo (Alef & Nannipieri, 1995). Vários trabalhos têm demonstrado o grande potencial das análises enzimáticas como indicadores sensíveis para detectar diferenças entre solos e mudanças que variam em função da influência antrópica nos mesmos (Dick, 1994; Dick et al., 1996; Trasar-Céspedes et al., 1998, Mendes et al., 2003).

As avaliações de diversidade microbiana fornecem indicativos sobre a variedade e a variabilidade, em termos de número (riqueza) e abundância (equitatividade) de espécies presentes em um determinado solo. O advento de técnicas moleculares tem permitido identificar que o número de espécies microbianas presentes no solo é bastante superior ao estimado com base em técnicas tradicionais de cultivo em placa (Ward, 1990). Torsvik et al (1990), com base em dados de reassociação de DNA extraído de solo, estimaram que o número de genomas em uma grama de solo estaria em torno de 10.000, dos quais uma pequena minoria (de 0,1 a 10%) teria capacidade de crescer em meios de cultivo no laboratório. Embora menos evidente, a diversidade microbiana é tão importante quanto a diversidade de plantas e animais. Quanto maior a diversidade, maior será a estabilidade do ecossistema e a eficiência do uso dos recursos disponíveis pois menor será o gasto de energia

para sustentar a biomassa ali presente (Tótolá & Chaer, 2002). Uma alta diversidade microbiana garante a estabilidade do ecossistema, pois ela produz um efeito “tampão” no solo contra estresses ambientais naturais ou causados pelo homem. Por exemplo, o estabelecimento de uma condição ambiental desfavorável no solo pode resultar na inibição de algumas populações que desempenham funções essenciais na comunidade. Em comunidades com alta diversidade, entretanto, há uma alta probabilidade de ocorrência de microorganismos quiescentes que poderiam desempenhar a mesma função, mas que possuem exigências diferentes relacionadas a fatores físicos, químicos e biológicos. Consequentemente, essas populações podem atuar como substitutos funcionais, assegurando que algumas funções vitais sejam sustentadas independentemente das mudanças ambientais (van Bruggen and Semenov, 2000). Para um determinado solo, as avaliações de diversidade envolvem aspectos genéticos (riqueza/abundância de genomas) e funcionais (variedade de funções de decomposição, transformação de nutrientes, promoção/supressão do crescimento de plantas etc.).

Em geral, os estudos de diversidade genética microbiana são baseados na extração e purificação do DNA das comunidades microbianas do solo, seguidas da amplificação dos genes que codificam para o RNA ribossômico (rDNA), pela reação da polimerase em cadeia (PCR), utilizando-se oligonucleotídeos iniciadores universais, para espécies ou domínios específicos. Posteriormente, os produtos da amplificação são separados por técnicas tais como o DGGE (eletroforese em gel de gradiente desnaturante), TGGE (eletroforese gel com gradiente térmico), RFLP (polimorfismo do comprimento dos fragmentos de restrição), ARDRA (análise de restrição do rDNA amplificado), SSCP (polimorfismo conformacional de fita simples) e t-RFLP (polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição terminal). O padrão de bandas obtidos nessas análises reflete os genótipos dominantes e a diversidade genética. As análises de FAME (ácidos graxos ligados a ésteres de fosfolípidios) e PLFAs (ácidos graxos ligados a ésteres de fosfolípidios), baseadas nos perfis de lipídios extraídos do solo, também são utilizadas para a caracterização da estrutura da comunidade microbiana. Alguns ácidos graxos com estruturas químicas distintas estão associados com maior frequência e abundância a determinados grupos taxonômicos de microorganismos. Esta associação possibilita o uso destas moléculas como biomarcadores para investigação de alterações na estrutura da comunidade microbiana. Inferências sobre mudanças nas estruturas dessas comunidades são baseadas em diferenças na composição do perfil cromatográfico de

ácidos graxos derivados de fosfolipídios entre amostras. Maiores detalhes sobre todas essas técnicas podem ser obtidos em Kirk et al. (2004).

Também merece destaque as metodologias moleculares que independem do cultivo, baseadas na extração direta de ácidos nucléicos de amostras ambientais (metagenômica), associada às técnicas de hibridização com sondas grupo-específicas e/ou PCR, clonagem e sequenciamento, que vêm permitindo uma avaliação mais precisa da diversidade microbiana no ambiente e a descoberta de novos grupos de organismos, nunca antes cultivados (Canhos & Manfio, 2004).

O uso do sistema Biolog<sup>TM</sup> (Garland & Mills, 1991), baseado na incubação de suspensões de solo em microplacas contendo sais de tetrazólio e 95 fontes diferentes de C, permite a determinação dos perfis fisiológicos da comunidade microbiana (*community-level physiological profiles*; CLPP). Originalmente essas placas destinavam-se à caracterização de isolados bacterianos provenientes de amostras clínicas (havia placas específicas para bactérias gram-positivas e gram-negativas) e não para análises de estrutura das comunidades microbianas do solo. Posteriormente, foi desenvolvida a microplaca EcoPlate<sup>TM</sup> Biolog, que utiliza o mesmo princípio, porém, com 3 repetições de 31 fontes de carbono consideradas ambientalmente mais relevantes. O corante tetrazólio, presente em cada poço das microplacas, é incolor mas ao ser reduzido pela atividade microbiana torna-se roxo. A intensidade desta coloração é medida por espectrofotometria e a absorbância utilizada como medida da capacidade da comunidade em degradar os substratos. Muitas espécies de fungos presentes no solo, não conseguem promover a redução dos sais de tetrazólio por isso, placas específicas para análises das comunidades de fungo também foram desenvolvidas (Classen et al., 2003). De acordo com a utilização dessas fontes, a similaridade entre as comunidades é comparada através de uma análise de agrupamento dos dados. A importância das análises de diversidade funcional reside no fato de que, somente com base nas alterações na diversidade genética, não é possível inferir se algumas funções do solo foram perdidas ou não (Tótola & Chaer, 2002). Além disso, as análises de diversidade funcional permitem uma melhor compreensão do funcionamento da comunidade microbiana, pois possibilitam averiguar a presença de redundância funcional no solo, isto é, a existência de populações que desempenham um mesmo papel funcional. Quanto maior a redundância funcional e a diversidade, mais rápido o ecossistema pode retornar às condições originais iniciais, ou seja, maior a sua resiliência.



Os estudos sobre o efeito de diferentes manejos de solo na microbiota dos solos tropicais utilizando avaliações qualitativas e quantitativas da biomassa, atividade e diversidade microbianas são fundamentais para identificar quais os parâmetros que poderiam ser recomendados como bioindicadores. Todos os procedimentos mencionados anteriormente para a avaliação da biomassa, atividade e diversidade microbiana permitem avaliar alguns aspectos do componente microbiológico dos solos e auxiliam nos estudos sobre os efeitos do manejo do solo na microbiota (Balota et al., 2003; Balota et al., 2004a,b; Mendes et al., 2003; Franchini et al., 2007; Hungria et al., 2009; Silva et al., 2009). Entretanto, considerando que além de *i*) refletir algum aspecto do funcionamento do ecossistema; *ii*) mostrar uma resposta precisa e rápida a qualquer perturbação e *iii*) possuir distribuição universal mas com especificidades regionais, um bom indicador ecológico de qualidade do solo também deve *iv*) ser de simples determinação e barato (Holloway & Stork, 1991). Sendo assim é possível que alguns desses procedimentos, devido à sua complexidade de análise e custo elevado (por exemplo, análises de diversidade genotípica), sejam limitados para utilização como bioindicadores. Um outro aspecto importante e que também deve ser considerado é que, como um único parâmetro não é capaz descrever e quantificar todos os aspectos da qualidade do solo, torna-se imprescindível a combinação de várias determinações.

Em um futuro próximo, o que se vislumbra é a possibilidade de que, além das propriedades químicas e físicas, determinações das propriedades biológicas possam fazer parte das rotinas de análises de solo. A inclusão dos bioindicadores em análises de solo será importante tanto no sentido de atestar a sustentabilidade dos sistemas de produção com adoção de manejos conservacionistas, como para alertar agricultores que estejam adotando sistemas de manejo que possam levar à degradação do solo. Outras utilizações dos bioindicadores podem envolver ecocertificação de produtos agrícolas, o monitoramento de programas de recuperação de áreas degradadas, o monitoramento de transgênicos, entre outros.

## **2) Índices de Qualidade do Solo**

Tendo em vista que a quantificação da qualidade de um solo é um processo complexo, a elaboração de Índices de Qualidade de Solo (IQS), englobando aspectos físicos químicos e

biológicos constitui-se numa forma de agregar e simplificar informações de natureza diversa (Smith et al., 1994; Karlen & Stott, 1994; Trasar-Cepeda et al., 1998; Hussain et al., 1999).

Karlen e Stott (1994) propuseram uma estratégia para calcular um IQS baseado na determinação de parâmetros químicos, físicos e biológicos que avaliassem funções específicas do solo. Posteriormente, essa estratégia foi replicada/adaptada por diversos autores (Hussain et al., 1999; Chaer, 2001; Silva, 2008). A título de exemplo, no modelo proposto por Chaer (2001) para quantificar o efeito de diferentes manejos na cultura do eucalipto sobre a qualidade do solo, as propriedades físicas, químicas e biológicas foram relacionadas às seguintes funções do solo: 1) receber, armazenar e suprir água; (2) armazenar, suprir e ciclar nutrientes; (3) promover o crescimento das raízes; (4) promover a atividade biológica e (5) manter a homeostase. A cada função foi associado um peso numérico, expresso em porcentagem, que determina o seu peso dentro do modelo. Similarmente, foram definidos pesos para cada indicador associado a cada função do solo. Cada indicador do modelo foi pontuado em uma escala de 0 a 1 por meio de funções de pontuação padronizada (FPPs; Wymore, 1993). As FPPs possuem forma sigmóide e descendente ou do tipo “menos é melhor”, quando o aumento do valor do indicador representa piora da função do solo (ex., densidade aparente); ascendente ou do tipo “mais é melhor”, quando o aumento do valor do indicador representa melhora da função (ex., matéria orgânica ou biomassa microbiana do solo) e do tipo “ótimo”, usada para indicadores que possuem nível ótimo para a função (ex., pH ou níveis de determinados nutrientes). Os valores dos limites inferiores, superiores e ótimo que determinam a forma das curvas das funções de pontuação foram definidos com base na literatura (para os indicadores químicos) e nos valores encontrados em uma área com mata nativa adjacente ao povoamento de eucalipto (para os indicadores físicos e biológicos). Finalmente, o IQS foi calculado pela soma das pontuações obtidas por cada indicador, ponderada pelos pesos definidos de acordo com o grau de importância atribuído tanto ao indicador, em relação à função do solo ao qual ele foi associado, quanto à própria função, em relação à qualidade global do solo. Na profundidade de 0 a 5 cm, o maior IQS foi obtido no solo sob vegetação natural, seguido dos solos sob eucalipto submetidos a manejos que priorizaram a conservação dos resíduos orgânicos por ocasião da reforma do povoamento. Os valores mais baixos dos IQS foram observados nos tratamentos em que houve a remoção ou queima do material orgânico da superfície do solo.

Wienhold et al. (2004) também usaram uma estratégia semelhante e compararam vários sistemas de manejo por meio do cálculo de um IQS a partir de valores normalizados de vários indicadores. A pastagem fertilizada e bem manejada foi o sistema que apresentou o maior IQS seguida em ordem decrescente pelos seguintes sistemas de manejo: pastagem com moderada carga animal; pastagem sem animais; pastagem com alta carga de animais; cultura anual sob plantio direto e por último, cultura anual sob plantio convencional, que apresentou o menor IQS.

As planilhas utilizadas no trabalho de Chaer (2001) constituíram a base para o desenvolvimento do software SIMOQS “Sistema de Monitoramento da Qualidade do Solo”, uma ferramenta computacional desenvolvida na Universidade Federal de Viçosa. O SIMOQS permite a construção e condução de testes de modelos para cálculos de índices de qualidade de solos de forma rápida, com uma interface amigável e que podem ser aplicados a diferentes regiões e culturas (Chaer, 2001). Mendes et al. (2008) verificaram que o uso do SIMOQS foi eficaz como ferramenta para auxiliar na avaliação da qualidade do solo em diferentes agroecossistemas na região do cerrado. Através dos cálculos do IQS foi possível confirmar os benefícios das pastagens bem manejadas (principalmente quando em consórcio com leguminosas), da rotação lavoura/pastagem e do plantio direto como sistemas de manejo capazes de favorecerem a qualidade desses solos.

Uma outra estratégia para elaboração de índices de qualidade de solo é baseada na construção de modelos orientados por análises de componentes principais (ACP) (Andrews et al., 2002) ou de regressão múltipla (Trasar-Cepeda et al., 1998; Chaer et al., 2009). Por exemplo, Trasar-Cepeda et al. (1998) sugeriram que a matéria orgânica de solos não perturbados (sob vegetação nativa) está em equilíbrio com várias propriedades biológicas e bioquímicas do solo. Esse equilíbrio pôde ser expresso por uma equação de regressão linear múltipla que estimou o conteúdo total de N do solo em função do C da biomassa microbiana, da capacidade de mineralização de N e das atividades de fosfatase,  $\beta$ -glucosidase e urease ( $R^2=0,97$ ). Desse modo, esses autores propuseram um índice bioquímico de qualidade de solo calculado a partir dos teores reais e estimados de N do solo (relação N medido/N estimado). Estudos posteriores demonstraram a validade desse índice para indicar a degradação ou o distúrbio de solos afetados pelo manejo, mineração ou contaminação com efluentes orgânicos e metais pesados (Leiros et al., 1999; Trasar-Cepeda et al., 2000). Chaer et al. (2009),

utilizando a mesma estratégia proposta por Trasar-Cepeda et al. (1998), observaram que o teor de C total de diferentes solos de florestais de coníferas não-perturbadas do noroeste dos EUA pôde ser explicado apenas pelo C da biomassa microbiana e pela atividade de fosfatase, independentemente do horizonte do solo ou da época de coleta das amostras. A relação entre o C medido ( $C_{med}$ ) e o C estimado ( $C_{est}$ ) por meio de um modelo de análise de regressão linear múltipla ( $R^2=0,97$ ), provou ser um indicador simples para acessar os efeitos de diferentes estresses (pH e metais pesados) e distúrbios (ciclos de umedecimento e secagem e de congelamento e descongelamento) aplicados aos solos daquela região.

Em um mundo globalizado onde a preocupação com a valoração dos serviços ambientais e as barreiras ao comércio internacional se tornam cada vez mais evidentes, é possível que, uma vez bem definidos e normatizados, o uso de índices de qualidade de solo permita a agregação de valor aos produtos agrícolas oriundos de propriedades rurais/países que sejam capazes de comprovar que as práticas de manejo adotadas em suas lavouras permitem a manutenção/melhoria da qualidade do solo, garantindo a preservação desse recurso para as gerações futuras. Seguindo esse raciocínio, o uso desses índices poderia também servir como referencial para a valoração das terras (Tótola & Chaer, 2002). Várias agências reguladoras internacionais têm discutido os padrões a serem utilizados nas avaliações de qualidade do solo. A título de exemplo, o comitê técnico internacional ISO 190, “Qualidade do Solo”, propôs uma lista de 35 parâmetros (químicos, físicos e biológicos) como indicadores de qualidade de solo; o EPA (US Environmental Protection Agency) propôs uma lista de 1800 parâmetros como indicadores de qualidade química do solo, enquanto que na OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) estão sendo definidos diversos indicadores agroambientais (aproximadamente 250, dos quais 58 relacionados à qualidade do solo) (Burns et al., 2006).

Atualmente, a Nova Zelândia já possui um sistema governamental on-line (<http://sindi.landcare.cri.nz> –) para avaliação da qualidade do solo, denominado SINDI (The New Zealand Soil Indicators), que utiliza apenas 7 parâmetros. Os dados obtidos em cada propriedade rural podem ser comparados, simultaneamente, a um banco de dados nacional oriundo de 500 solos ou ao melhor conhecimento disponível para cada indicador (interpretação do especialista). A Holanda também possui um programa de monitoramento da qualidade do solo em larga escala, onde 200 locais são monitorados (Bloem et al., 2006). A

rede holandesa para monitoramento da qualidade do solo dividiu os solos do país, com seus respectivos usos da terra, em 10 classes. Para cada classe de solo/uso, 20 locais diferentes (repetições) são amostrados. Desde 1997 um grupo de bioindicadores (biomassa, C e N mineralizável, incorporação de timidina) foi incluído no monitoramento holandês. As amostras de solo são coletadas na profundidade de 0 a 10 cm, armazenadas em geladeira (12°C) e pré-incubadas a 12°C e 50% da capacidade de campo por 4 semanas antes do início das determinações analíticas.

Longe da pretensão de representar um consenso, as várias abordagens utilizadas para o monitoramento da qualidade do solo e para os cálculos de IQS constituem, antes de tudo, subsídios para discussões técnicas e filosóficas sobre:

*i)* quais os atributos (químicos, físicos e biológicos) devem fazer parte de um conjunto mínimo de dados para avaliar a qualidade do solo,

*ii)* como padronizar as metodologias utilizadas na sua determinação e os procedimentos para coleta e armazenamento das amostras de solo

*iii)* como ajustar modelos de referência para cada sistema de manejo/cultura avaliado, definindo os pesos e valores de cada função/indicador nesses modelos e levando em consideração os aspectos locais, principalmente aqueles relacionados às condições edafoclimáticas.

Conforme destacado por Chaer (2001), o estudo da qualidade do solo implica na avaliação de um grande número de características que, além de gerarem um grande volume de dados, geram também muitas dificuldades na interpretação dos mesmos, pois é comum a ocorrência de tendências divergentes entre os indicadores. A título de exemplo, esse autor cita que em solos sob vegetação nativa que foram convertidos para agricultura com base em adubações químicas e calagem do solo, a rápida melhoria nos atributos químicos, para o desenvolvimento das plantas cultivadas é acompanhada simultaneamente por uma drástica alteração nos aspectos relacionados à biologia do solo, tais como a redução do carbono da biomassa microbiana, que não são passíveis de reconstituição no curto/médio prazo. A

compatibilização dessas questões, a inclusão do componente econômico relacionado à produtividade das culturas nos cálculos de IQS e a própria forma de utilização desses índices são aspectos importantes que também deverão ser objeto de discussão em estudos futuros. Uma certeza, porém, permanece, conforme destacado por Mendes & Reis Junior (2004): a de que a busca por práticas agrícolas que proporcionem altas produtividades, mas que também levem em consideração os diversos aspectos relativos à qualidade ambiental é uma equação complexa cuja resolução não pode, definitivamente, negligenciar o componente biológico do solo, pois este apresenta uma estreita inter-relação com os componentes físicos e químicos, os quais irão em conjunto influenciar não só a produtividade das culturas, mas também a sustentabilidade dos sistemas agrícolas.

### 3) Considerações finais

O futuro da utilização dos bioindicadores nos estudos de qualidade dos solos brasileiros, depende das ações que estão sendo conduzidas hoje. Existe a necessidade de um esforço a nível nacional para a realização de avaliações sistemáticas para se medir e interpretar os parâmetros que sirvam adequadamente como bioindicadores, padronizando os métodos desde a amostragem, a estocagem e o pré-tratamento das amostras até os procedimentos analíticos e a apresentação dos resultados. Embora já existam atualmente algumas iniciativas nesse sentido no País, tais como o projeto “Uso de parâmetros microbiológicos como bioindicadores para avaliar a qualidade do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas” ([www.cpac.cnptia.embrapa.br](http://www.cpac.cnptia.embrapa.br)), a articulação/estruturação de uma rede **“Rede Brasileira para Monitoramento da Qualidade de Solos Agrícolas”**, com arranjo multi-institucional e caráter transdisciplinar seria uma forma de agregar todos os especialistas envolvidos no assunto. Esse esforço favoreceria a otimização dos recursos investidos na pesquisa e auxiliaria na comparação dos resultados obtidos em diferentes pontos do território nacional.

Outra questão refere-se à necessidade da construção de uma base de dados consistente sobre os atributos biológicos de diferentes solos brasileiros, semelhantemente ao banco de dados de 500 solos utilizados pelos pesquisadores neozelandeses para a elaboração do SINDI. A formação, manutenção e alimentação constante de uma base de dados dessa natureza

auxiliariam fortemente na superação de dificuldades na interpretação dos valores dos bioindicadores, permitindo saber, por exemplo, quão distantes os valores obtidos estão ou não de um bom solo, localizado sob condições similares. Um outro aspecto que também deve ser considerado é o fato de que num país de dimensões continentais, como o Brasil, é possível a ocorrência de variações regionais, com relação aos bioindicadores.

Enfim, existe no cenário atual uma forte demanda de pesquisa sobre “Bioindicadores de qualidade solo”, tema complexo, de abrangência nacional, cujas respostas não podem ser atendidas por projetos de pesquisa isolados. O Brasil possui especialistas com capacidade para responder esses desafios cabendo a nós cientistas do solo, nossas instituições, órgãos governamentais e sociedades científicas envidar todos os esforços para tornar esse sonho realidade no mais breve período de tempo.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao auxílio de bolsas e financiamento de projetos pelo CNPq, FAPDF e PROBIO II.

### **Referências**

- ALEF, K; NANNIPIERI, P. Enzyme activities. In: **Methods in applied microbiology and biochemistry**. London, Academic Press, 1995. p. 311-374.
- ANDERSON, J.P. & DOMSCH, K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.10, p.215-221, 1978.
- ANDREWS, S.S.; KARLEN, D.L. & MITCHELL, J.P. A comparison of soil quality indexing methods for vegetable production systems in Northern California. **Agriculture Ecosystems & Environment**, 90:25-45, 2002
- BALOTA, E. L. ; KANASHIRO, M. ; COLOZZI FILHO, A. ; ANDRADE, D. S. ; DICK, R. P. . Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 300-306, 2004a

- BALOTA, E. L. ; COLOZZI FILHO, A. ; ANDRADE, D. S. ; DICK, R. P. . Long-term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization in a Brazilian Oxisol. **Soil & Tillage Research**, v. 77, p. 137-145, 2004b
- BALOTA, E. L. ; ANDRADE, D. S. ; COLOZZI FILHO, A. ; DICK, R. P. . Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, p. 15-20, 2003.
- BLOEM, J.; SCHOUTEN, A.J.; SOREN, J.S; RUTGERS, M.; WERF, A.; BREURE,M. Monitoring and evaluating soil quality. In: BLOEM, J.; HOPKINS, D.W.; BENEDETTI,A. ed. **Microbiological methods for evaluating soil quality**. Cambridge. CABI Publishing, 2006. p.23-49.
- BRANDÃO-JUNIOR, O. ; HUNGRIA, M. ; FRANCHINI, J. C. ; ESPÍNDOLA, C. R. . Comparação entre os métodos de fumigação-extração e fumigação-incubação para a determinação do carbono da biomassa microbiana em um Latossolo Vermelho distroférrico eutrófico do norte do Paraná. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 1911-1919, 2008.
- BURNS, R.G.; NANNIPIERI, P.; BENEDETTI,A.; HOPKINS, D.W. Defining soil quality. In: BLOEM, J.; HOPKINS, D.W.; BENEDETTI,A. (eds). **Microbiological methods for evaluating soil quality**. Cambridge. CABI Publishing, 2006. p.23-49.
- CHAER, G.M. **Modelo para determinação de índice de qualidade do solo baseado em indicadores físicos, químicos e microbiológicos**. 2001. 89p. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- CHAER, G.M.; MYROLD, D.D.; BOTTOMLEY, P.J. A soil quality index based on the equilibrium between soil organic matter and biochemical properties of undisturbed coniferous forest soils of the Pacific Northwest. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.41, p.822-830, 2009.
- CLASSEN, A.T.; BOYLE, S.I; HASKINS, K.E.; OVERBY,S.T.; HART, S.C. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. **FEMS Microbiol. Ecology**, v.44, p.319-328. 2003.
- DICK, R.P. Soil enzymes activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., ed. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p.107-124. (Special Publication number, 35).
- DICK, R.P.; BREAKWELL, D.P; TURCO, R. Soil enzyme activities and biodiversity measurements. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J., ed. **Methods for assessing soil quality**.



- Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.247-272. (Special publication number, 49).
- DORAN, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.44, p.765-771. 1980.
- DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., ed. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p.107-124. (Special Publication number, 35).
- FRANCHINI, J. C. ; CRISPINO, C. C. ; SOUZA, R. A. ; TORRES, E. ; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Dordrecht, v. 92, p. 18-29, 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. **Applied and environmental Microbiology**, Washington, v.57; p.2351-2359, 1991.
- HOLLOWAY, J.D. & STORK, N.E. The dimension of biodiversity: The use of invertebrates as indicators of human impact. In: HAWKSWORTH, D.L. (ed). **The biodiversity of microorganisms and invertebrates: Its role in sustainable agriculture**. CAB International, Wallington, Oxon, UK. p. 37-63. 1991.
- HUNGRIA, M. ; FRANCHINI, J. C. ; BRANDÃO-JUNIOR, O. ; KASCHUK, G. ; SOUZA, R. A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v. online, p. 1, 2009.
- HUSSAIN, I; OLSON, K.R.; WANDER, M.M.; KARLEN, D.L. Adaptation of soil quality indices and application to three tillage systems in southern Illinois. **Soil and tillage Research**, v.50, p. 237-249, 1999.
- JENKINSON, D.S.; LADD, J.N. Microbial biomass in soils: measurement and turnover. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N., eds. **Soil Biochemistry**, 5. New York: Marcel Decker, 1981. p. 415-471.
- JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S. The effects of biocide treatment on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.8, p.209-213, 1976.
- KARLEN, D.L.; STOTT, D.E. A framework for evaluating physical and chemical indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.R.; STEWART, B.A. (Ed). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 53-72. (Special Publication, 35).

- KIRK, J.L.; BEAUDETTE, L.A.; HART, M.; MOUTOGLIS, P.; KLIRONOMOS, J.N.; LEE, H.; TREVORS, J.T. Methods of studying soil microbial diversity. **Journal of Microbiological Methods**, v.58, p.169-188, 2004.
- LEIROS, M.C.; TRASAR-CEPEDA, C.; GARCIA-FERNANDEZ, F. & GIL-SOTRES, F. Defining the validity of a biochemical index of soil quality. **Biology and Fertility of Soils**, 30:140-146, 1999.
- MANFIO, G. P. ; CANHOS, V. P. Recursos microbiológicos para Biotecnologia. In: José Maria Silveira; Maria Ester Dal Poz; Ana Lúcia D. Assad. (Org.). Biotecnologia e recursos genéticos: desafios e oportunidades para o Brasil. Campinas, SP: Instituto de Economia Unicamp e FINEP, 2004. p. 233-252.
- MATSUOKA, M.; MENDES, I.C.; LOUREIRO, M.F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste- MT. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.425-433, 2003
- MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B. **Uso de parâmetros microbiológicos como indicadores para avaliar a Qualidade do Solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas. Embrapa Cerrados, Planaltina – DF** (documentos, 112) p. 34. 2004
- MENDES, I.C.; SOUZA, L. V.; RESCK, D. V. S.; GOMES, A. C. Propriedades biológicas em agregados de um LE sob plantio convencional e direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 435-443, 2003.
- MENDES, I.C; VIVALDI, L. 2001. Dinâmica da biomassa e atividade microbiana em uma área sob mata de galeria na região do DF. In: RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L. da; SOUSA-SILVA, J. C. (Ed.). **Cerrado: caracterização e recuperação de Matas de Galeria**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 2001. pp 664-687.
- MENDES, I.C. ; da SILVA, L. G. ; REIS JUNIOR, F. B. ; TÓTOLA, M.R. . Cálculo de um índice de qualidade de solo para diferentes agroecossistemas do Cerrado. **In: IX Simposio Nacional sobre o Cerrado e II Simposio Internacional sobre Savanas Tropicais**, 2008, Brasília. Anais. Planaltina : Embrapa Cerrados, 2008.
- ODUM, E.P. The strategy of ecosystem development. **Science**, v.164, p.262-270,1969.
- OLIVEIRA, J.R.A., MENDES, I.C., VIVALDI, L. Carbono da biomassa microbiana em solos de cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo: avaliação dos métodos fumigação- incubação e fumigação-extração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 25, 863-871. 2001.
- POWLSON, D.S; BROOKES, P.C; CHRISTENSEN, B.T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.159-164, 1987.

- REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C. **Biomassa microbiana do solo**. Planaltina -DF: Embrapa Cerrados, 2007 (Documentos, 205).
- RICE, C.W.; MOORMAN, T.B; BEARE, M.. Role of microbial biomass carbon and nitrogen in soil quality. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J., ed. **Methods for assessing soil quality** Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.203-216. (Special Publication, 49).
- ROSCOE, R., MERCANTE, F.M., MENDES, I.C., REIS-JUNIOR, F.B., FRANCHINI, J.C., HUNGRIA, M. Biomassa microbiana do solo: fração mais ativa da matéria orgânica. In: ROSCOE, R., MERCANTE, F.M., SALTON, J.C., (Ed) **Dinâmica da matéria orgânica do solo sistemas conservacionistas - modelagem matemática e métodos auxiliares**. Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, Brazil, pp 163-198. 2006.
- SANTANA, D.P.; BAHIA-FILHO, A.F.C. Indicadores de qualidade do solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 27, 1999, Brasília. Ciência do Solo e Qualidade de Vida. **Resumos**. Brasília: Embrapa Cerrados, UnB 1999. CD. Rom
- SILVA, L. G. **Uso e monitoramento de indicadores microbiológicos para avaliação da qualidade dos solos de cerrado sob diferentes agroecossistemas**. 2008. 121p. Tese (Mestrado) - Universidade de Brasília.
- SILVA, L.G.; MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F.B.; FERNANDES, M.F.; MELO, J.T; KATO, E. Atributos físicos, químicos e biológicos de um Latossolo de cerrado sob plantio de espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, aceito para publicação junho de 2009.
- SMITH, J.L; HALVORSON, J.; PAPENDICK, R.I. Variable indicator Kriging: A procedure for integrating soil quality indicators. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., ed. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p.107-124. (Special Publication number, 35)
- SMITH, J.L.; PAUL, E.A.. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.; STOTZKY, D.G., ed. **Soil biochemistry**. New York: M. Dekker, 1990. v.6. p.357-396.
- TORSVIK, V.; GOKSOYR, J.; DAEE, F. L. High diversity in DNA soil bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 56, p. 782-787, 1990.
- TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V.H; SCHAEFER, C.E.G.R; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (eds) **Tópicos em Ciência do Solo, Vol. 2**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.195-276 . 2002.
- TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M.C.; GIL-SOTRES, F.; SEOANE, S. Towards a biochemical quality index for soils: An expression relating several biological and biochemical properties. **Biology and Fertility of Soils** 26:100-106. 1998.

- TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M.C.; SEOANE, S.; GIL-SOTRES, F. Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. **Soil Biology & Biochemistry**, 32:1867-1875, 2000.
- TURCO, R.F.; KENNEDY, A.K.; JAWSON, M.D. Microbial indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., ed. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p.107-124. (Special Publication number, 35).
- VAN BRUGGEN, A.H.C.; SEMENOV, A.M. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. **Applied Soil Ecology**, 15:13-24, 2000.
- VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, p. 703-707, 1987.
- WARD, D.M.; WELLER, R.; BATESON, M.M. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. **Nature**, London, v.345, p.63-65, 1990.
- WARDLE, D. Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. (Eds). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1994. p.419-436. (EMBRAPA- CNPAF. Documentos, 46).
- WIENHOLD, B.J.; ANDREWS, S.S.; KARLEN, D.L. Soil quality: a review of the science and experiences in the USA. **Environmental Geochemistry and Health** 26: 89-95, 2004.
- WYMORE, A.W. **Model-Based systems engineering: An Introduction to the mathematical theory of discrete systems and to the tricolydon theory of system design**. CRC, Boca Raton, FL, 1993.
- ZIBILSKE, L.M. Carbon mineralization. In: WEAVER, R.W.; SCOTT, A.; BOTTOMLEY, P.J., ed. **Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. Part-2. p. 836-864. (Special Publication, 5)