



**Universidade  
Católica de Brasília**

**Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa  
Stricto Sensu em Ciências Genômicas e Biotecnologia**

**QUALIDADE BIOLÓGICA DE SOLOS DE CERRADO EM ÁREAS  
DEGRADADAS E SOB DIFERENTES MANEJOS DE CANA-DE-  
AÇÚCAR**

**Autor: Geancarlo Henrique da Silva Ribeiro  
Orientadora: Dra. Cristine Chaves Barreto  
Coorientadora: Dra. Iêda de Carvalho Mendes**

**Brasília-DF  
2012**

**GEANCARLO HENRIQUE DA SILVA RIBEIRO**

**QUALIDADE BIOLÓGICA DE SOLOS DE CERRADO EM ÁREAS DEGRADADAS  
E SOB DIFERENTES MANEJOS DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Strictu Sensu em Ciências Genômicas e Biotecnologia da Universidade Católica de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Dra. Cristine Chaves Barreto

Coorientadora: Dra. Iêda de Carvalho Mendes

**Brasília  
2012**

R484q Ribeiro, Geancarlo Henrique da Silva.

Qualidade biológica de solos de cerrado em áreas degradadas e sob diferentes manejos de cana-de-açúcar. / Geancarlo Henrique da Silva Ribeiro – 2012.

139f. ; il.: 30 cm

Dissertação (mestrado) – Universidade Católica de Brasília, 2012.

Orientação: Profa. Dra. Cristine Chaves Barreto

Coorientação: Profa. Dra. Iêda de Carvalho Mendes



Dissertação de autoria de Geancarlo Henrique da Silva Ribeiro, intitulada “QUALIDADE BIOLÓGICA DE SOLOS DE CERRADO EM ÁREAS DEGRADADAS E SOB DIFERENTES MANEJOS DE CANA-DE-AÇÚCAR”, apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Genômicas e Biotecnologia da Universidade Católica de Brasília, em 10 de agosto de 2012, defendida e aprovada pela banca examinadora abaixo assinada:

---

Profa. Dra. Cristine Chaves Barreto  
Orientadora  
Programa de Pós-graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia  
Universidade Católica de Brasília-UCB

---

Dra. Iêda de Carvalho Mendes  
Coorientadora  
Pesquisadora- EMBRAPA-CERRADOS

---

Profa. Dra. Betânia Ferraz Quirino  
Examinadora- Interna  
Programa de Pós-graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia  
Universidade Católica de Brasília-UCB

---

Dra. Maria Lucrécia Gerosa Ramos  
Examinadora Externa.  
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária  
Universidade de Brasília-UnB

As pessoas que incondicionalmente me apoiam e, sobretudo me amam, aos meus pais, dedico esta dissertação.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo longo caminho percorrido até este momento. E por todas as oportunidades a mim concedidas, faz-se presente nas conquistas alcançadas.

Aos meus pais, Carlos Henrique Ribeiro e Edslaine Maria Ribeiro, pelo amor incondicional e apoio em todos os momentos que necessitei.

A minha querida família, minhas irmãs Lidiane e Liliane, minha sobrinha Maria Fernanda, meu irmão Edcarlo (In Memoriam) meu cunhado Adalton e todos os demais familiares que sempre estiveram ao meu lado, sempre incentivando e torcendo por minhas realizações.

A Barbara Aparecida Rodrigues, namorada e companheira, pelo amor, paciência, carinho em todos os momentos, por sempre estar ao meu lado nas alegrias e principalmente nas decepções e derrotas.

A Iêda de Carvalho Mendes, por todos os ensinamentos, dedicação, compromisso, exemplo e por sua presença, que em quase dez anos de orientações aprendi a admirar e respeitar. Muito obrigado por tudo.

A minha orientadora e professora Cristine Chaves Barreto, pela oportunidade e confiança depositada, pelos ensinamentos e paciência.

Ao pesquisador e acima de tudo amigo, Fábio Bueno, por toda a ajuda, conselhos e incentivo nos momentos mais complicados, sempre esbanjando alegria e descontração.

A todos os funcionários e companheiros de estudos do Laboratório de Microbiologia da Embrapa-Cerrados, meu grande amigo Lucas, Clodoaldo, Leandro, André, Álisson, Eudaci, Osmar e demais colegas que me auxiliaram em todas as etapas do meu trabalho.

A todos os funcionários da Usina Jalles Machado/Goianédia-GO, que não mediram esforços para auxiliar as coletas e levantamentos de dados das áreas do estudo.

A todos os envolvidos no Pronex-FAPDF/2009, coordenado pela Dra. Mercedes Maria da Cunha Bustamante, além do IEF-MG e CRAD-UnB, que auxiliaram as coletas nas áreas em Paracatu-MG.

A pesquisadora Fabiana de Gois Aquino, pelo apoio na realização do estudo na área do INMET/DF.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação Stricto Senso em Biotecnologia e ciências Genômicas da Universidade Católica de Brasília-UCB.

A todos os colegas de aula e amigos da UCB, em especial ao colega e parceiro José Antonio Paniagua, pela companhia e amizade construídas ao longo de muitos quilômetros (de Unaí-MG a Brasília-DF) e muitas horas de viagem a caminho das aulas.

A todos meus amigos, que próximos ou distantes nunca deixaram de acreditar que seriam possíveis os objetivos que sempre almejei.

A todos os meus mais sinceros agradecimentos. Obrigado!

“Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver. Apesar de todos os desafios, incompREENsões e períodos de crise.  
Pedras no caminho?  
Guardo todas, um dia vou construir um castelo...”

(Fernando Pessoa)

## RESUMO

Referência: RIBEIRO, G. H. R. **Qualidade biológica de solos de cerrado em áreas degradadas e sob diferentes manejos de cana-de-açúcar**. 2012. 139f. Dissertação (Mestrado em Ciências Genômicas e Biotecnologia) - Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2012.

O uso sustentável do solo torna-se cada vez mais relevante, diante do aumento das atividades antrópicas. Porém quantificar a qualidade do solo é uma tarefa complexa, cuja abordagem tem evoluído muito desde os primórdios da década de 90, além do crescente interesse nas propriedades biológicas do solo e no uso de parâmetros biológicos, os biondicadores, para detectar com mais antecedência, alterações que ocorrem no solo em função do seu uso e manejo. Por constituírem a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo os micro-organismos são mais sensíveis para detectar com antecedência mudanças que ocorrem no solo em função de diferentes sistemas de manejo e uso. Nesse sentido, dois estudos foram realizados para avaliar a qualidade biológica de solos de Cerrado, representada por análises simultâneas do carbono da biomassa microbiana, respiração basal do solo e da atividade de enzimas relacionadas aos ciclos de C, P e S ( $\beta$ -glucosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, respectivamente). No capítulo 1, foi avaliada a implantação de modelos de recuperação de áreas degradadas e sua influência em curto e médio prazo na qualidade biológica do solo, foram coletadas amostras de solo na profundidade de 0-10 cm em três localidades: duas fazendas em Paracatu-MG, nos anos de 2010 e 2011, e no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) em Brasília-DF no ano de 2011. Nas amostras de solos do INMET além das avaliações de biomassa microbiana e atividade enzimática também foram realizadas análises de diversidade metabólica (Biolog-Ecolog) e genética (DGGE). Os resultados evidenciaram haver melhoria na qualidade biológica dos solos após a implantação de modelos de recuperação de áreas, e demonstraram a capacidade dos atributos microbiológicos para uso na avaliação da qualidade do solo, em ambientes degradados ou em algum estágio de recuperação. No capítulo 2 com o objetivo de avaliar como o cultivo da cana-de-açúcar em sistemas de manejo orgânico e convencional influencia a qualidade biológica do solo, foram coletadas amostras de solo, na Usina Jalles Machado (Goianésia-GO), em três profundidades (0-10, 10-20 e 20-40 cm), em áreas com cultivo de cana-de-açúcar sob manejo orgânico (3 anos e 11 anos), cultivo convencional com queima, cultivo convencional sem queima e uma área de vegetação de Cerrado nativo. Os sistemas de cultivo da cana reduziram a matéria orgânica do solo (MOS), o carbono da biomassa microbiana (CBM) e a atividade das enzimas fosfatase ácida e arilsulfatase do solo, em relação ao cerrado nativo. O manejo do solo sob cultivo de cana-de-açúcar no sistema orgânico sobretudo na camada mais superficial, proporcionou aumentos no CBM e na atividade enzimática ( $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida) em comparação aos sistemas convencionais. Já o solo sob o sistema convencional com

queima apresentou reduções nos níveis de atividade das enzimas arilsulfatase e fosfatase ácida, quando comparado ao sistema sem queima.

**Palavras-chave:** Biomassa microbiana. Atividade enzimática. Diversidade microbiana. Recuperação. Orgânico.

## ABSTRACT

The sustainable use of soil becomes increasingly relevant because of the growing in human activities. However, quantifying soil quality is a complex task, whose approach has evolved a lot since the beginning of the 90s, with the growing interest in the biological properties of soil and the use of biological parameters, the bioindicators, to detect in advance the changes that occur in soil depending on their use and management. For being the most active and living part of soil organic matter, microorganisms have more sensitivity to detect early changes caused by different management systems and uses that occur in soil. Accordingly, two studies were conducted to evaluate the biological quality of cerrado soils, represented by simultaneous analysis of the microbial biomass carbon, soil basal respiration and enzymatic activity related to the cycles of C, P and S ( $\beta$ -glucosidase, acid phosphatase and arylsulfatase, respectively). In chapter one, aiming at evaluating how the implantation of recovery models influence, in short and medium term, the biological quality of soil, samples of it were collected at the depth of 0-10 cm in three locations: two farms in Paracatu, Minas Gerais, in 2010 and 2011, and in Instituto Nacional de Meteorologia (National Institute of Meteorology – INMET) in Brasília, Distrito Federal, in 2011. In soil samples from INMET, besides the evaluation of microbial biomass and enzymatic activity, metabolic (Biolog-Ecolog) and genetic (DGGE) diversity analysis were also conducted. In general, the results showed that there is improvement in the biological quality of soils after the implementation of recovery models, what demonstrates the ability of microbiological attributes to be used in the evaluation of soil quality, in degraded environments or in some stage of recovery. In chapter two, in order to evaluate how the cultivation of sugarcane in organic and conventional management systems influences the biological quality of soil, samples were collected in the municipality of Goianésia, Goiás, in three depths (0-10 cm, 10-20 cm and 20-40 cm) in areas with sugarcane cultivation under organic management (3 years and 11 years), conventional cultivation with burning and without burning, and an area of native cerrado vegetation. The sugarcane cropping systems reduced the soil organic matter (SOM), microbial biomass carbon (MBC) and the activity of the enzymes acid phosphatase and arylsulfatase soil, compared to the native vegetation. Soil management under cultivation of cane sugar organic system especially in the superficial layer, leading to increases in CBM and the enzyme ( $\beta$ -glucosidase, arylsulfatase and acid phosphatase) compared to conventional systems. Have the soil under the conventional system with burns showed reductions in activity levels of enzymes arylsulfatase and acid phosphatase, when compared to the system without burning.

**Keywords:** Microbial biomass. Enzymatic activity. Microbial diversity. Recovery. Organic.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1-** Atividades iniciais de ocupação e evolução dos processos que desencadeiam a degradação do ambiente. Adaptado de Oliveira-Filho e Medeiros (2008). ..... 20

### CAPÍTULO 1

**Figura 2-** Mapas da região do estudo, no município de Paracatu-MG e da bacia hidrográfica da região. Fonte: modificados de IBGE (2004) ..... 40

**Figura 3-** Visão geral das áreas amostradas em Paracatu-MG. Fazenda 1 (FAZ. 1); Fazenda 2 (FAZ. 2). (A) Áreas com vegetação nativa de Cerrado; (B) áreas em recuperação; (C) áreas com pastagens moderadamente degradadas. ..... 41

**Figura 4-** Localização das áreas de estudo no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), Brasília, DF. RE= área em recuperação, DE = área degradada e CER = Cerrado preservado. Imagens retiradas do Google Earth em abril de 2011. ..... 42

**Figura 5-** Visão geral das áreas amostradas em Brasília-DF, no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). (A) Áreas com vegetação nativa de Cerrado; (B) áreas em recuperação; (C) áreas degradadas. ..... 44

**Figura 6-** Distribuição das médias trimestrais de precipitação (1961-2010). (A) Paracatu-MG. (B) Brasília-DF ..... 47

**Figura 7-** Representação esquemática da coleta de amostras de solos nas fazendas com Modelos de recuperação demonstrativos implantado em Paracatu-MG, nas áreas degradadas..... 48

**Figura 8 -** Esquema demonstrativo da localização das 31 fontes de carbono diferentes e controles em uma microplaca Biolog-Ecolog. ..... 52

**Figura 9-** Estrutura funcional das comunidades bacterianas de três áreas (Cerrado nativo, recuperação e degradada), determinada pelo perfil metabólico em microplacas Biolog Ecolog (Análise de NMS – “Non-metric Multidimensional Scalling”). Os valores entre parênteses após os títulos dos eixos referem-se à percentagem da variabilidade original dos dados representada em cada eixo. .... 63

**Figura 10 –** Dendrograma de similaridade da estrutura das comunidades bacterianas de três áreas (Cerrado nativo, recuperação e degradada), gerado pelo algoritmo UPGMA e matriz de similaridade de Jaccard a partir dos dados obtidos da análise de DGGE. .... 64

**Figura 11 –** Análise componente principal (ACP) representando a distribuição das áreas conforme a similaridade dos bioindicadores do solo na Fazenda 1, no município de Paracatu-MG. As setas representam a capacidade de cada indicador em separar os tratamentos. Atividade enzimática:  $\beta$ -Glicosidase (Glicosid), sulfatase (Sulfatas) e fosfatase (Fosfatas), carbono da biomassa microbiana (CBM). (A) 2010. (B) 2011 ..... 66

**Figura 12 –** Análise componente principal (ACP) representando a distribuição das áreas conforme a similaridade dos bioindicadores do solo na Fazenda 2, no município de Paracatu-MG. As setas representam a capacidade de cada indicador em separar os

tratamentos. Atividade enzimática: $\beta$ -Glicosidase (Glicosid), sulfatase (Sulfatas) e fosfatase (Fosfatas), carbono da biomassa microbiana (CBM). (A) 2010. (B) 2011. ....	67
<b>Figura 13</b> – Análise componente principal (ACP) representando a distribuição das áreas conforme a similaridade dos bioindicadores do solo no INMET, em Brasília-MG. As setas representam a capacidade de cada indicador em separar os tratamentos. Atividade enzimática: $\beta$ -Glicosidase (Glicosid), sulfatase (Sulfatas) e fosfatase (Fosfatas), carbono da biomassa microbiana (CBM).....	68

## CAPÍTULO 2

<b>Figura 14</b> - Médias mensais de precipitação (1985-2008) e temperatura (2008-2009). Dados da estação Meteorológica localizada na Usina Jalles Machado em Goianésia-GO. ....	83
<b>Figura 15</b> - Detalhe da área de coleta do solo, mostrando os seis pontos de amostragem nas entrelinhas de cultivo, três de cada lado da linha.. ....	84
<b>Figura 16</b> - Análises de componentes principais (ACP) representando a distribuição das cinco áreas, nas profundidades 0-10 cm, de acordo com as similaridades nas propriedades microbiológicas dos solos consideradas na matriz primária. CBM- carbono da biomassa microbiana; fosfatas – fosfatase ácida; sulfatas – arilsulfatase. ....	96
<b>Figura 17</b> - Análises de componentes principais (ACP) representando a distribuição das cinco áreas, nas profundidades 10-20 cm, de acordo com as similaridades nas propriedades microbiológicas dos solos consideradas na matriz primária. CBM- carbono da biomassa microbiana; glicosid - $\beta$ -glicosidase; fosfatas – fosfatase ácida; sulfatas – arilsulfatase.....	97
<b>Figura 18</b> - Análises de componentes principais (ACP) representando a distribuição das cinco áreas, nas profundidades 20-40 cm, de acordo com as similaridades nas propriedades microbiológicas dos solos consideradas na matriz primária. CBM- carbono da biomassa microbiana; glicosid - $\beta$ -glicosidase; fosfatas – fosfatase ácida; sulfatas – arilsulfatase.....	98
<b>Figura 19</b> - Análises de componentes principais (ACP) representando a distribuição das cinco áreas, nas profundidades 0-10, 10-20 e 20-40 cm, de acordo com as similaridades nas propriedades microbiológicas dos solos consideradas na matriz primária. CBM- carbono da biomassa microbiana; glicosid - $\beta$ -glicosidase; fosfatas – fosfatase ácida; sulfatas – arilsulfatase. ....	99

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Evolução da produtividade de grãos e algodão na região dos Cerrados de 1975 a 2009 em comparação a produtividade brasileira..... 24

### CAPÍTULO 1

**Tabela 2**- Propriedades químicas na profundidade de 0 -10 cm de solos sob degradação, em processo de recuperação e sob Cerrado nativo, em Paracatu-MG (amostragem de 2010) e Brasília (amostragem de 2011)..... 45

**Tabela 3** - Propriedades microbiológicas e matéria orgânica na profundidade de 0 -10 cm de solos sob degradação, em processo de recuperação e sob Cerrado nativo, em Paracatu-MG (anos de 2010 e 2011) e Brasília (ano de 2011)..... 61

**Tabela 4** - Índice de diversidade de Shannon (H), riqueza de substratos (S) e equitabilidade (E) na profundidade 0-10 cm, com base na utilização de fontes de C presentes nas microplacas Biolog - Ecolog pela comunidade bacteriana do solo, em Brasília-DF..... 63

### CAPÍTULO 2

**Tabela 5**- Histórico e características dos sistemas de uso e manejo instalados em Latossolo, no município de Goianésia – GO..... 79

**Tabela 6** - Propriedades químicas nas profundidades 0 -10, 10-20 e 20-40 cm de um Latossolo de cerrado sob diferentes sistemas de cultivo de cana-de-açúcar e sob vegetação nativa (Cerradão)..... 80

**Tabela 7** - Propriedades granulométricas nas profundidades (0 -10, 10-20 e 20-40 cm) de um Latossolo de cerrado sob diferentes sistemas de cultivo de cana-de-açúcar e sob vegetação nativa (Cerradão)..... 81

**Tabela 8** - Matéria orgânica do solo (MO), carbono da biomassa microbiana do solo (CBM), respiração basal e quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) nas profundidades (0-10, 10-20 e 20-40 cm), sob diferentes sistemas de cultivo de cana-de-açúcar e solo sob vegetação nativa (Cerradão)..... 91

**Tabela 9** - Atividade das enzimas do solo  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida nas profundidades (0-10, 10-20 e 20-40 cm), sob diferentes sistemas de cultivo de cana-de-açúcar e solo sob vegetação nativa (Cerradão)..... 92

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	17
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	20
2.1 O CERRADO E A AÇÃO ANTRÓPICA.....	21
2.2 RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS .....	22
2.3 OCUPAÇÃO AGRICOLA DOS CERRADOS: A EXPANSÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR .....	24
2.4 QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO .....	27
2.5 BIOINDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO .....	29
2.5.1 Biomassa microbiana.....	30
2.5.2 Atividade enzimática do solo.....	32
2.5.3 Diversidade genética e metabólica do solo.....	34
<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>QUALIDADE BIOLÓGICA DE SOLOS DE CERRADO EM ÁREAS DEGRADADAS NO DF E NO MUNICÍPIO DE PARACATU-MG.....</b>	37
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	38
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	41
2.1 DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO.....	41
2.2 COLETAS E ANÁLISES DE AMOSTRAS DE SOLO.....	47
2.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	49
2.3.1 Carbono da Biomassa Microbiana (CBM).....	49
2.3.2 Respiração basal e quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ) .....	50
2.3.3 Atividade enzimática .....	50
2.3.4 Matéria Orgânica do Solo (MOS) .....	51
2.3.5 Determinação do perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas.....	51
2.3.6 Extração de DNA da microbiota diretamente do solo .....	52
2.3.7 Amplificação do gene do RNAr 16S .....	54
2.3.8 Eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) .....	54
2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	55
2.4.1 Propriedades microbiológicas .....	55
2.4.2 Perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas .....	56
2.4.1 Estrutura genética das comunidades bacterianas .....	56

<b>3 RESULTADOS.....</b>	57
3.1 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO E ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS – Fazendas de Paracatu .....	57
3.2 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO E ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS - INMET, Brasília .....	59
3.3 QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO .....	64
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	69
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	74
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>QUALIDADE BIOLÓGICA DE SOLOS DE CERRADO SOB DIFERENTES MANEJOS DE CANA-DE-AÇÚCAR .....</b>	75
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	76
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	79
2.1 DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO.....	79
2.2 COLETAS E ANÁLISES DE AMOSTRAS DE SOLO.....	83
2.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	84
2.3.1 Carbono da Biomassa Microbiana (CBM).....	84
2.3.2 Respiração basal e quociente metabólico (qCO <sub>2</sub> ) .....	85
2.3.3 Atividade enzimática .....	85
2.3.4 Matéria Orgânica do Solo (MOS) .....	86
2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	86
<b>3 RESULTADOS.....</b>	88
3.1 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO E ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS.....	88
3.2 QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO .....	94
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	99
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	105
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	106
<b>Anexo A.....</b>	135
<b>Anexo B.....</b>	136
<b>Anexo C.....</b>	137
<b>Anexo D.....</b>	138
<b>Anexo E.....</b>	139
<b>Anexo F.....</b>	140
<b>Anexo G.....</b>	140

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A intensa interferência humana nos ecossistemas naturais está ocasionando processos de degradação do solo que tem comprometido uma considerável parte dos solos utilizados no mundo (DORAN; SARRANTONIO; LIEBIG , 1996; DORAN, 2000). As perdas de solo em alguns locais ao redor do mundo são superiores a 50 toneladas por hectare/ano e representa um processo de degradação 100 vezes mais rápido que a taxa de formação do solo (MONTGOMERY, 2007). Diante esse cenário, tornou-se crescente o interesse em estudar parâmetros que indiquem, de forma precoce e eficaz, as modificações que ocorrem no solo, como manejos adequados para preservar ou melhorar sua qualidade e garantir a sustentabilidade dos agroecossistemas (CHAER et al., 2009; DICK, 1992; MENDES et al., 2009).

O desenvolvimento agrícola da Região dos Cerrados, apesar de excepcional do ponto de vista de participação no cenário agrícola nacional, muitas vezes tem sido acompanhado do manejo inadequado do solo, resultando em decréscimos nos teores de matéria orgânica, destruição dos agregados, compactação e erosão (SILVA; LEMAINSKI; RESCK, 1994). Este fato é considerado um dos responsáveis pela existência de áreas degradadas ou em processos de degradação (DIAS; GRIFFITH, 1998). A proporção deste impacto está relacionada com o manejo do solo, portanto práticas agrícolas que priorizam a conservação do solo e a sustentabilidade da agricultura têm recebido atenção crescente, por parte de pesquisadores e agricultores (BALOTA et al., 1998). O grande desafio da agricultura moderna está em atender a uma demanda de alimentos cada vez maior e paralelamente há necessidade da preservação dos recursos naturais como água e o solo (GODFRAY et al., 2010).

Como a manutenção da produtividade dos ecossistemas agrícolas e florestais depende, do processo de ciclagem de nutrientes e transformação da matéria orgânica do solo, tem sido crescente o interesse nos aspectos relacionados ao funcionamento biológico do solo sob sistemas naturais e agrícolas (MATSUOKA; MENDES; LOUREIRO, 2003). Os micro-organismos constituem a parte viva e mais ativa da matéria orgânica, portanto os atributos microbiológicos possuem a capacidade de detectar alterações provocadas por diferentes manejos do solo em

um estágio anterior ao das mudanças nos parâmetros químicos e físicos (BALOTA et al., 1998; DICK, 1994; HUNGRIA et al., 2009). Alguns trabalhos evidenciam a grande flexibilidade de utilização e a sensibilidade de atributos microbiológicos em indicar alterações na comunidade microbiana do solo decorrentes de atividades antrópicas diversas (CARNEIRO, 2000; KUPERMAN; CARREIRO, 1997; MELLONI et al. 2000; VARGAS; SCHOLLES, 2000). Dentre os atributos utilizados para caracterizar o componente biológico dos solos, destacam-se as medidas de biomassa, a atividade e diversidade microbiana (DORAN; PARKIN, 1994; MENDES; JUNIOR, 2004; SANTANA; BAHIA FILHO, 1999; TURCO; KENNEDY; JAWSON, 1994).

Por atuar na decomposição da matéria orgânica do solo, na dinâmica dos nutrientes e regeneração da estabilidade dos agregados (BASTIDA et al., 2008), a biomassa microbiana tem sido frequentemente sugerida como parâmetro sensível aos impactos causados pelo sistema de uso e manejo do solo, principalmente quando comparada às propriedades físicas ou químicas (BENDING et al., 2004; CAMPOS, 1998; CHAER; TÓTOLA, 2007; GAMA-RODRIGUES; GAMA-RODRIGUES; FRANCO, 2008; KNOEPP et al., 2000; SANTOS et al., 2011). Já as enzimas são mediadoras do catabolismo biológico dos componentes orgânico e mineral do solo, podendo ser uma medida indireta de atividade microbiana e produtividade do solo. A atividade enzimática representa o potencial bioquímico e pode indicar a qualidade do solo (TAYLOR et al., 2002). Além de parâmetros microbiológicos relacionados à atividade dos micro-organismos e sua participação na ciclagem da matéria orgânica do solo, a avaliação da diversidade comunidade microbiana também possibilita monitorar mudanças no manejo do sistema solo-planta (BENDING et al., 2000; BURGESS; WINGFIELD; WINGFIELD; 2001; SOUZA et al., 2012; ZHONG et al., 2010).

Portanto, a compreensão dos processos microbiológicos nos solos é importante para garantir a conservação dos ecossistemas e a produtividade dos agroecossistemas em longo prazo. Visando aprimorar a base de conhecimento referente à qualidade biológica e ecologia microbiana dos solos de Cerrado, o presente trabalho teve os seguintes objetivos:

## 1.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar a qualidade biológica de solos de cerrado em áreas de pastagem e degradada e sob diferentes estádios de recuperação em Paracatu-MG e Brasília-DF. E sob diferentes manejos de cana-de-açúcar em Goianésia-GO.

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar como a implantação de modelos de recuperação de áreas degradadas influencia em curto e médio prazo a qualidade biológica de solos de Cerrado, representada por análises simultâneas do carbono da biomassa microbiana, respiração basal do solo e da atividade de enzimas relacionadas aos ciclos de C, P e S ( $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, respectivamente).
- Avaliar os efeitos de um modelo de recuperação de áreas degradadas sobre o perfil genético e metabólico das comunidades bacterianas de solos de Cerrado.
- Avaliar o efeito do cultivo da cana de açúcar em sistemas de manejo orgânico e convencional (com queima e sem queima da palhada) sobre a qualidade biológica de solos de cerrado, representada por análises simultâneas de carbono da biomassa microbiana e da atividade de enzimas relacionadas com os ciclos do C, P e do S ( $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, respectivamente).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 O CERRADO E A AÇÃO ANTRÓPICA

O Cerrado com uma área de 204 milhões de hectares é o segundo maior bioma brasileiro, ocupando cerca de 24% do território nacional. Abrange como área contínua grande parte da região central do Brasil como os estados de Goiás, Tocantins, Distrito Federal, partes do estado da Bahia, Ceará, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Piauí, Rondônia, Roraima e São Paulo e em outras áreas (SANO et al., 2007). Compõe este bioma uma mistura de estratos herbáceos, arbustivos e arbóreos. Há uma grande diversidade biológica e sazonalidade pluviométrica com seis meses de chuvas e seis meses de seca (RIBEIRO; WALTER, 1998).

As savanas, no Brasil, são denominadas Cerrado, termo de origem hispânica, que significa fechado. Este termo caracteriza, de forma geral, densas formações vegetacionais arbustivo-herbáceas, sendo também utilizado para classificar feições fisionômicas e formações fitofisionomias e para classificar características estruturais ou florísticas específicas de cada região (WALTER; CARVALHO; RIBEIRO, 2008).

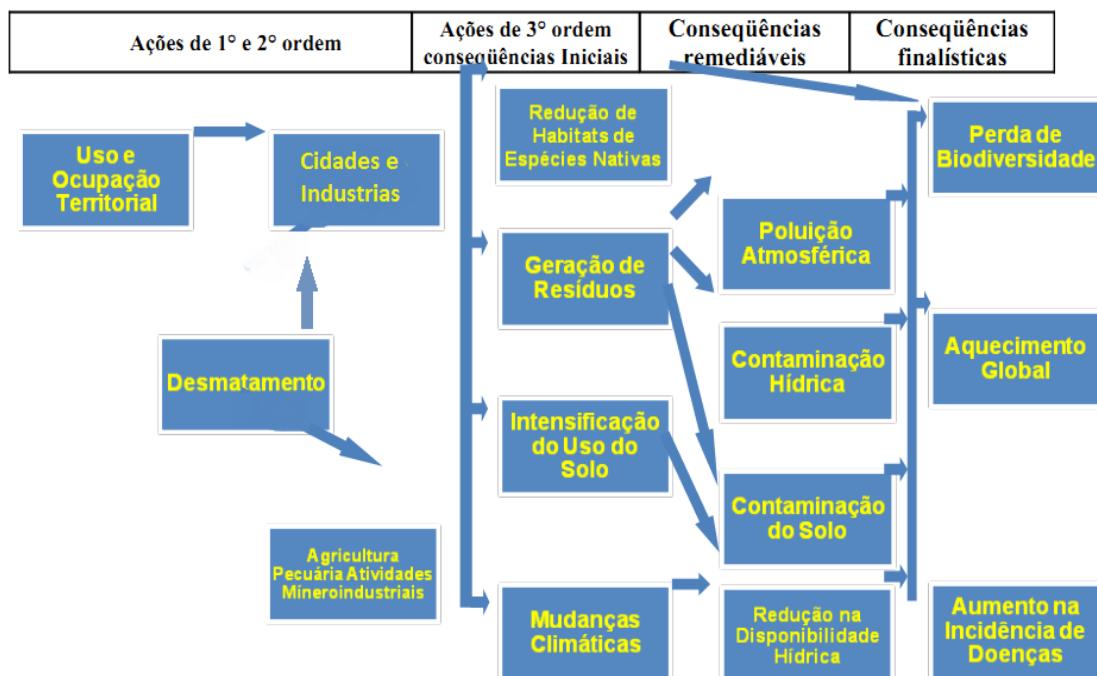
As áreas de savanas, em todo planeta, têm sido amplamente utilizadas para atividades humana, pois estão diretamente associadas com a evolução da espécie, sendo provavelmente a formação vegetal que abrigou os primeiros *Homo sapiens* (BRONOWSKI, 1983). Em várias partes do globo e no Brasil, domínios de vegetação não florestais, como as savanas, não sensibilizam suficientemente o público leigo, que dispõe esforços e uma atenção especial para florestas tropicais (KLINK; MACHADO, 2005; RATTER; RIBEIRO; BRIDGEWATER, 1997).

Apesar do Cerrado ser ocupado desde aproximadamente 12.000 anos (BARBOSA; SCHMITZ, 2008), a viabilidade desta ocupação e consolidação do Cerrado foi proveniente dos seguintes fatores, segundo Fonseca et al. (2004): a) disponibilidade de terras relativamente próximas dos centros econômicos do país; b)

competitividade nacional no mercado externo, principalmente na produção de grãos; fortalecimento do capital financeiro privado com a reestruturação interna da produção e o estabelecimento do agronegócio; c) inovação tecnológica advinda de uma política de ciência e tecnologia.

Parte da ocupação deste ambiente se faz por frentes relacionadas às atividades econômicas recentes, que ao longo da ocupação e exploração desencadearam diversos danos ambientais. Essas atividades econômicas geralmente causam, direta ou indiretamente, o desmatamento do Cerrado (figura 1).

**Figura 1-** Atividades iniciais de ocupação e evolução dos processos que desencadeiam a degradação do ambiente.



Fonte: Adaptado de Oliveira-Filho e Medeiros (2008).

Analizando as diversas frentes de ocupação e as diversificadas consequências deste processo, é possível compreender como, em um curto período de ocupação, o bioma Cerrado obteve adjetivos como: feio e improdutivo (PESSÔA, 1988), celeiro mundial (LOBATO, 2008), caixa d'água da América Latina e hotspot mundial (MYERS, 2000), área de expansão de biocombustível (RIBEIRO, et al., 2008) etc.

O Cerrado tem sido visto como uma alternativa ao desmatamento da Amazônia, sendo proposta a exploração mais intensa dessa região, seja por expansão agrícola, seja por plantios florestais para fixar carbono atmosférico. Por

isso, desde a década de 70 tornou-se o foco das novas expansões agropecuárias, sendo considerada a última grande fronteira a ser explorada do globo (BORLAUG, 2002). Da área de 2 milhões de km<sup>2</sup> ocupada por este domínio apenas 33.000 km<sup>2</sup> estão conservadas como áreas de proteção, claramente insuficientes quando comparada com as principais formas de uso da terra no Cerrado (KLINK; MACHADO, 2005). Segundo Sano et al. (2009), este bioma possui atualmente 60,5% da sua cobertura natural, com áreas mais extensas de cobertura natural na porção norte do bioma e uma maior cobertura antrópica ao sul, coincidindo com o histórico de ocupação e uso da terra no Brasil.

## 2.2 RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS

A degradação de uma área, geralmente está associada aos efeitos ambientais considerados negativos ou adversos e que decorrem principalmente de atividades ou intervenções humanas (TAVARES, 2008). O Decreto Federal 97.632/89 define degradação ambiental como sendo “processos resultantes de danos ao meio ambiente, pelos quais se perdem ou se reduzem algumas de suas propriedades, tais como a qualidade produtiva dos recursos naturais”. Apesar da ausência de estudos conclusivos com relação à área degradada no Brasil, todas as estimativas apontam o desmatamento e as atividades agropecuárias como principais fatores de degradação dos solos (ALVES et al., 2008).

Os processos de degradação e de recuperação de áreas degradadas estão associados à interação entre inúmeros fenômenos biológicos e físico-químicos envolvidos. Assim, a recuperação de áreas degradadas pode ser definida como um conjunto de ações, que visam proporcionar o restabelecimento das condições de equilíbrio e sustentabilidade existentes anteriormente em um sistema natural (TAVARES, 2008). De acordo com o estabelecido pelo IBAMA (1990), a recuperação de áreas degradadas é um processo de reversão dessas áreas em terras produtivas e auto-sustentáveis, podendo chegar ao nível de uma recuperação de processos biológicos – sendo assim chamada “reabilitação” –, ou mesmo aproximar-se muito da estrutura ecológica original – “restauração”.

No caso das perturbações ultrapassarem a resiliência do ecossistema, isto é, sua capacidade de se recuperar de flutuações internas advindas de distúrbios, como é o caso das áreas degradadas, somente com intervenção humana (com práticas de restauração) é possível estabilizar e reverter esses processos modificadores, acelerando e direcionando a sucessão natural (ENGEL; PARROTA, 2003). Desta forma, atualmente, a restauração deixou de ser apenas o plantio de mudas sem vínculos com concepções teóricas, para se tornar uma área do conhecimento, a Restauração Ecológica (KAGEYAMA; GANDARA, 2000; PALMER; AMBROSE; POFF, 1997; RODRIGUES; GANDOLFI, 2000). Considera-se que restaurar um ecossistema não é reproduzir exatamente suas características originais, contudo pode-se recuperar sua estabilidade e integridade biológica, que inclui um nível mínimo de biodiversidade e de variabilidade na estrutura e no funcionamento dos processos ecológicos (KAGEYAMA; GANDARA; OLIVEIRA, 2003; YOUNG 2000).

Existem vários modelos de recuperação, apoiados pela adoção de diferentes técnicas de melhoria das condições ambientais e considerando que cada ambiente tem suas peculiaridades. Neste sentido são exemplos de técnicas de recuperação: i) biorremediação – que se baseia na capacidade dos micro-organismos de modificar ou decompor determinados poluentes, recuperando locais contaminados (solos, águas superficiais e subterrâneas (CUNHA, 1996); ii) regeneração natural - procedimento mais simples e barato de recuperação, no entanto, demanda um tempo relativamente longo, pois deve promover uma nova dinâmica de sucessão ecológica, onde a área atingida é considerada o ponto de partida para o estabelecimento de novas espécies; iii) sucessão vegetal - procedimentos que visam a agilização do processo de sucessão ecológica através da implantação de diferentes modelos sucessionais, desde espécies pioneiras, secundárias iniciais, secundárias tardias, até espécies clímax (VALCARCEL; D'ALTÉRIO, 1998).

Para que uma sucessão vegetal seja bem sucedida, devem-se adotar plantios consorciados de espécies nativas que já estão adaptadas às condições do ambiente natural, para criar um microclima e ofertar recursos similares às condições anteriormente encontradas (FELFILI et al, 2000). Além disso, os modelos implantados devem priorizar, além da utilização de espécies vegetais de rápido crescimento, aquelas que sejam capazes de proporcionar melhorias no solo por meio do aporte de matéria orgânica (FRANCO et al. 1992).

Diante do acelerado processo de degradação do Cerrado, várias tentativas foram e estão sendo desenvolvidas visando a conservação e recuperação deste bioma. Nessa perspectiva, surgiu, em 2004, uma proposta para restaurar esses ecossistemas, que foi nomeada de Módulos Demonstrativos de Recuperação de Cerrado – MDR (FELFILI; FAGG; PINTO, 2005). Os (MDR) do Cerrado são unidades de plantio onde, em um espaçamento pré-determinado, plantam-se espécies arbustivas e arbóreas nativas do bioma Cerrado que apresentam uso múltiplo (FELFILI; FAGG; PINTO, 2005). Tal modelo objetiva recuperar áreas degradadas do Cerrado, principalmente as áreas de Reserva Legal (RL).

### 2.3 OCUPAÇÃO AGRÍCOLA DOS CERRADOS: A EXPANSÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR

Desde o início da ocupação agrícola dos Cerrados, essa região vem apresentando um desenvolvimento excepcional. Para exemplificar, em 2009, os Cerrados brasileiros foram responsáveis por mais de 50% da produção nacional de soja e aproximadamente 40% da produção de milho (IBGE, 2009). Outras culturas como o algodão e o feijão tem apresentado produtividades semelhante ou maior à média nacional (Tabela 1).

Ao contrário de muitas regiões no mundo, em que o estabelecimento da agricultura deu-se em locais onde a fertilidade natural dos solos permitia a capitalização inicial dos agricultores, no Cerrado, a agricultura instalou-se em áreas de solos ácidos de baixíssima fertilidade (VEIGA, 1999). Isto foi possível, mediante a geração de tecnologias que permitiram a incorporação desses solos ácidos, altamente intemperizados ao processo agrícola. Entre as técnicas usadas, a correção e adubação dos solos, o lançamento de estirpes de rizóbio para a soja e o desenvolvimento de cultivares e de sistemas de produção para soja, milho e trigo adaptados à região (MENDES; REIS JR, 2004).

**Tabela 1.** Evolução da produtividade de grãos e algodão na região dos Cerrados de 1975 a 2009 em comparação a produtividade brasileira.

Produto	Produtividade (t/ha)					
	1975		2003		2009	
	Cerrado	Brasil	Cerrado	Brasil	Cerrado	Brasil
Soja	1,5	1,7	2,8	2,8	2,9	2,6
Milho	1,5	1,5	4	3,7	4,9	3,7
Feijão	0,5	0,6	1,5	0,8	1,6	0,9
Algodão	1,0	0,5	3,5	3,1	3,7	3,6

Fonte: Modificado de Diniz (2006) e IBGE (2009).

O cultivo da cana-de-açúcar já foi a base da economia brasileira, no século XVI, principalmente para a produção de açúcar, um importante produto de exportação da época (FAUSTO, 2006). Atualmente, a expansão dessa cultura é impulsionada pela produção de biocombustíveis, principalmente do etanol, por ser uma fonte de energia ambientalmente mais correta quando comparada com a utilização de combustíveis fósseis como o petróleo, sendo uma forma eficiente de redução de emissão de carbono (CERRI et al., 2007; MACEDO; SEABRA; SILVA., 2008; OLIVEIRA, 2008; SOARES, et al., 2009). A expansão da cana-de-açúcar nos últimos 25 anos aconteceu principalmente no Centro-Sul do Brasil, em São Paulo que é o maior produtor nacional, este crescimento ocorreu principalmente pela substituição de áreas de pastagens degradadas (MACEDO, 2007).

A aptidão edafoclimática ao plantio da cana em áreas de Cerrado, conforme indicação da Embrapa (MANZATTO, 2009), apresenta classes que variam de alta a média, com predomínio das classes médias. Neste cenário, os estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, praticamente dobraram sua produção média no período de 1992 a 2007 (LIMA, 2010). Isso ocorreu devido a um conjunto de fatores, dentre eles destaca-se a disponibilidade de terras de boa qualidade e de fácil mecanização a preços mais baixos em relação ao sudeste (IBGE, 2009). Essa crescente expansão da cultura é possível, sobretudo, pela boa capacidade adaptativa da cana, podendo se desenvolver em solos pobres ou com condições físicas não ideais (MARIN, 2011).

O tipo de colheita da cana-de-açúcar pode influenciar a produção e longevidade da cultura, além dos atributos físicos, químicos e biológicos do solo. A prática de queima dos canaviais é geralmente adotada nas diversas regiões canavieiras do Brasil e do mundo com o objetivo de facilitar as operações de corte e carregamento (SPAROVECK et al., 1997). Porém, essa prática afeta negativamente o ambiente, uma vez que a queima libera gás carbônico, gases de nitrogênio e de

enxofre, além da fuligem da palha queimada (RICCI, 1994; SZMRECSÁNYI, 1994). Outros problemas estão relacionados a alteração da microbiota do solo e diminuição da umidade e porosidade dos solos, aumentando a compactação e consequentemente a erosão (SZMRECSÁNYI, 1994; URIQUIAGA et al., 1998). No sistema de colheita mecanizada (sem queima), as folhas, bainhas, ponteiros, além de quantidade variável de pedaços de colmo são cortados, triturados e lançados sobre a superfície do solo, formando uma cobertura de resíduo vegetal, denominada palha ou palhada, com isso, há redução da erosão e aumento do teor de matéria orgânica no solo (SOUZA, 2005).

Uma alternativa sustentável para a produção de cana-de-açúcar no Cerrado poderia ser alcançada com um sistema de cultivo orgânico. De acordo com Sampaio, Araújo e Santos (2008), esse sistema pode melhorar a qualidade do solo em relação ao cultivo convencional. Historicamente, no Brasil, relacionada à produção de hortigranjeiros, a agricultura orgânica é regulamentada de acordo com o MAPA (2012), Lei nº. 10.831 de 23 de dezembro de 2003, “considera-se sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não renovável, empregando sempre que possível métodos culturais biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos e a proteção do meio ambiente”. Para USDA (1984), o sistema de cultivo orgânico se fundamenta na visão do solo como um sistema vivo, o qual deve ser nutrido, de modo a não restringir as atividades de organismos benéficos e necessários à reciclagem de nutrientes.

O sistema de cultivo orgânico da cana-de-açúcar envolve a aplicação de técnicas alternativas de cultivo, com adubação orgânica, controle mecânico de plantas infestantes e uso de inseticidas naturais e controle biológico de pragas, sem adição de qualquer defensivo ou adubo químico e com colheitas sem queima (PASCHOAL, 1994). Dentre essas técnicas, destacam-se os aspectos que visam à adição e conservação da matéria orgânica do solo, como o uso da vinhaça (líquido residual da destilação do licor de fermentação do álcool de cana-de-açúcar), como fonte orgânica de adubação (SILVA; CABEDA; CARVALHO, 2006). Assim, aumenta-se a fertilidade e a qualidade da matéria orgânica do solo, com o aumento do

conteúdo de substâncias húmicas alcalino solúveis mais condensadas (CANELLA et al. 2003). Substituir a adubação mineral como fonte de potássio para a cana-de-açúcar reduz o custo de produção por tonelada de cana-de-açúcar e contribui para a redução dos problemas de poluição dos corpos de água próximos às usinas (LEITE, 1999). Outro subproduto, a torta de filtro, mistura de bagaço moído e lodo da decantação obtida nos filtros rotativos após a extração da sacarose residual da borra, é rica em matéria orgânica, além de nutrientes (N, P e Ca), e por isso sua aplicação se mostra vantajosa para a cultura da cana-de-açúcar (NUNES JR. 1988).

## 2.4 QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO

Os micro-organismos 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, bioremediação de poluentes e agrotóxicos. Dessa forma, o componente biológico do solo está intimamente relacionado ao seu funcionamento, apresentando uma estreita inter-relação com os componentes físicos e químicos (MENDES; VIVALDI, 2001). A atividade biológica dos solos abrange todas as reações metabólicas celulares, suas interações e seus processos bioquímicos mediados ou conduzidos pelos organismos do solo. Para o objetivo deste trabalho consideramos qualidade biológica do solo, o padrão multivariado de propriedades biológicas do solo como: a biomassa microbiana do solo, respiração basal, o quociente metabólico e a atividade de enzimas relacionadas ao ciclo do C, P e S (MENDES et al., 2012).

Devido a sua enorme importância na manutenção da produtividade dos ecossistemas agrícolas e florestais, torna-se cada vez mais frequente as pesquisas que colaboram para um melhor entendimento sobre as propriedades microbiológicas dos solos de Cerrado sob vegetação nativa e sobre os impactos de sistemas agrícolas (ALVES et al., 2011; MATSUOKA; MENDES; LOUREIRO, 2003; SILVA, 2008; SILVA et al., 2010). Neste sentido, conhecer a quantidade, diversidade e atividade do componente microbiano dos solos de Cerrado preservado e convertido à agricultura, podem auxiliar no entendimento das mudanças no balanço de carbono

e fluxo de energia, pois a atividade e biomassa microbiana são consideradas indicadores sensíveis de degradação do solo (TURCO; KENNEDY; JAWSON, 1994).

O principal componente da fertilidade dos solos tropicais é a matéria orgânica que é o resultado da acumulação de resíduos de plantas e animais parcialmente decompostos e parcialmente ressintetizados, submetidos a um contínuo ataque microbiano, sendo composta principalmente de carbono (C), oxigênio (O), hidrogênio (H), fósforo (P) e enxofre (S) (SILVA; RESK, 1997). Os micro-organismos do solo compõem a fração viva e mais ativa desse componente, sendo responsáveis pela decomposição da matéria orgânica, que libera nutrientes em formas disponíveis às plantas na forma inorgânica, além de degradar substâncias tóxicas (KENNEDY; DORAN, 2002). Pela ação dos micro-organismos do solo, através do processo de mineralização, as formas orgânicas de nitrogênio, fósforo e enxofre são disponibilizadas para as plantas na forma inorgânica (SINGH et al., 1989).

As práticas agrícolas e outras formas de uso da terra promovem alterações na comunidade microbiana do solo. O efeito dos sistemas de manejo sobre a microbiota não se restringe apenas a aspectos quantitativos, como as alterações na biomassa. A composição da comunidade microbiana também pode ser alterada, pois os grupos de micro-organismos podem ser afetados diferentemente pelas práticas agrícolas de manejo, como por exemplo, o preparo frequente do solo, pode ocasionar o rompimento físico de hifas, prejudicando a população fúngica (CALDERÓN et al., 2001). Outro exemplo é o uso de altas quantidades de fertilizantes e pesticidas que provoca mudanças na densidade de fungos e bactérias, supressão ou promoção de crescimento e mudanças estruturais na comunidade microbiana (HEILMANN; LEBUHN; BEESE, 1995, GIRVAN et al., 2004). Em solos de Cerrado *sensu stricto* convertidos a pastagens já foi demonstrado que a diversidade bacteriana e a riqueza de espécies estimadas em relação ao cerrado preservado foram pelo menos 10 vezes menor (QUIRINO et al., 2009).

Neste sentido, o interesse pelos estudos dos micro-organismos presentes no solo vem crescendo, já que estes representam papel chave na ciclagem de nutrientes e na manutenção de sua fertilidade. Apesar de sua importância, o solo ainda tem sido considerado um dos habitats menos estudados do planeta e apenas recentemente começou-se a entender que sua biodiversidade é fator crucial na regulação e no funcionamento dos ecossistemas (COPEY, 2000).

## 2.5 BIOINDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO

O conceito de qualidade do solo compreende a capacidade do solo de sustentar a produtividade biológica dentro das fronteiras do ecossistema, mantendo o equilíbrio ambiental, promovendo a saúde de plantas e animais (DORAN; PARKIN, 1994). Nesse conceito pode ser incorporado ainda, a segurança alimentar e a saúde humana (KENNEDY; PAPENDICK, 1995). Assim, a qualidade do solo influencia o potencial de uso, a produtividade e a sustentabilidade global do ecossistema.

A avaliação da qualidade do solo necessita de uma definição de funções do solo pertinentes a cada atributo, ou seja, aos componentes físicos, químicos e biológicos que interagem entre si de forma dinâmica (DORAN; PARKIN, 1994). Para Larson e Pierce (1994), são consideradas funções do solo: i-promover o crescimento das raízes; ii-receber, armazenar e suprir água; iii- armazenar, suprir e ciclar nutrientes; iv- promover as trocas gasosas; v-promover a atividade biológica. Além dessas, pode-se considerar como outra função a capacidade de manter a homeostase (CHAER, 2001).

Avaliar a perda da qualidade de um determinado solo em função do seu uso, passa pela utilização de características presentes no agrossistema, que sejam indicativas do estado da qualidade do mesmo. Neste sentido, a análise química fornece informações visando a manutenção da produtividade vegetal, enquanto os atributos físicos podem levar anos para se alterar de forma significativa (ZILLI et al., 2003). Por essa razão, um conjunto mínimo de indicadores que englobam atributos físicos, químicos e biológicos deve ser utilizado nas análises de qualidade do solo, pois nenhum indicador individualmente irá descrever e quantificar todos os aspectos da qualidade do solo (DORAN; PARKIN, 1994; STENBERG, 1999).

Segundo Stenberg (1999), um indicador deve ser capaz de: i) Integrar propriedades e processos físicos, químicos e biológicos e representar as propriedades do solo que são mais difíceis de medir diretamente; ii) possuir uma variação natural e relevância ecológica bem conhecidas; iii) ser sensível a variações em longo prazo no manejo e clima e resistentes a flutuações em curto prazo vindas de mudanças climáticas ou desenvolvimento da cultura; iv) possibilitar uma medição

acurada e precisa diante de uma ampla variação de tipos e condições de solos; v) Possibilitar uma determinação simples e de baixo custo;

Pelo fato de estarem intimamente relacionados com os fatores físicos e químicos, pela sua importância na manutenção do funcionamento dos solos e devido a sua sensibilidade em detectar alterações no ambiente decorridas do uso e manejo os micro-organismos tem sido bastante utilizados como bioindicadores de qualidade do solo (MENDES et al., 2009).

Mudanças no uso do solo associadas ao sistema de manejo, ao uso excessivo de pesticidas e fertilizantes e a aplicação de resíduos urbanos e industriais, provocam alterações nas propriedades biológicas do solo. Nesta perspectiva, vários trabalhos utilizando indicadores biológicos já foram realizados para avaliar o efeito dessas práticas agrícolas sobre a qualidade do solo (ALVES et al., 2011; ARAÚJO, et al., 2003; D'ANDREA et al, 2002; MENDES et al., 2003; MOREIRA; MALAVOLTA, 2004; SANTOS; CASTILHOS; CASTILHOS, 2004).

### **2.5.1 Biomassa microbiana**

Parte da fração viva da matéria orgânica do solo é constituída pela biomassa microbiana, composta por bactérias, fungos, protozoários e algas. Representa um importante componente na avaliação da qualidade do solo porque atua nos processos de decomposição natural interagindo na dinâmica dos nutrientes e regeneração e nos processos que levam a estabilização dos agregados, além disso, participam dos processos de formação do solo (intemperização das rochas), biorremediação de poluentes e metais pesados (FRANZLUEBBERS, 1999, apud PEREZ; RAMOS; MCMANUS, 2004; REIS JR.; MENDES, 2007). A biomassa microbiana é influenciada pelas variações sazonais de umidade e temperatura, pelo manejo do solo, pelo cultivo e, também, pelos resíduos vegetais (PEREZ; RAMOS; MCMANUS, 2004).

A biomassa microbiana responde a mudanças nos sistemas de uso e manejo do solo, pois o compartimento da matéria orgânica é diretamente influenciado por fatores bióticos e abióticos, sendo essas detectáveis muito mais rapidamente pela biomassa microbiana e seus metabólitos do que nos teores de carbono (C) do solo,

devido ao tempo de ciclagem da matéria orgânica (GAMA-RODRIGUES et al., 2005).

A quantidade de carbono que a biomassa de micro-organismos do solo imobiliza em suas células representa o carbono da biomassa microbiana do solo, desta forma, a biomassa microbiana não fornece indicações sobre os níveis de atividades das populações microbianas, por isso a importância de análises que medem a atividade microbiana (MENDES et al., 2009). Como a respiração basal, que representa a quantidade de  $\text{CO}_2$  liberada pela respiração dos micro-organismos e pode ser expressa em  $\mu\text{g de CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ . Este parâmetro varia conforme o estado fisiológico das células e é influenciado por diferentes fatores, tais como: umidade, temperatura e disponibilidade de nutrientes (MENDES; REIS Jr. 2004).

Outra variável é a taxa de respiração microbiana por unidade de carbono da biomassa microbiana, também conhecida como quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ). Esta relação sugere que, à medida que a biomassa microbiana do solo torna-se mais eficiente na utilização dos recursos do ecossistema, menos C é perdido como  $\text{CO}_2$  pela respiração e maior proporção de C é incorporada aos tecidos microbianos (TÓTOLA; CHAER, 2002). Assim, valores mais elevados de  $q\text{CO}_2$ , geralmente, são associados com ecossistemas jovens ou submetidos a alguma condição de estresse, enquanto menores valores, geralmente estão associados com ecossistemas maduros e estáveis (ANDERSON; DOMSCH, 1993).

Segundo Carvalho (2005), o tamanho da comunidade microbiana e a sua atividade determinam a intensidade com que os processos bioquímicos acontecem no solo. Devido à atividade da microbiota do solo ser responsável por processos como a decomposição dos compostos orgânicos, pela ciclagem de nutrientes e pelo fluxo de energia do solo, a biomassa microbiana e sua atividade têm sido apontadas como as características mais sensíveis às alterações na qualidade do solo, causadas por mudanças de uso e práticas de manejo (TRANNIN; SIQUEIRA; MOREIRA, 2007).

A quantidade e composição da biomassa microbiana podem ser influenciadas por diversos fatores, entre os quais a cobertura vegetal. Esta pode influenciar a biomassa microbiana de forma direta, como no caso do efeito seletivo da rizosfera, ou indireta, por meio das fontes de C provenientes dos resíduos culturais, que podem ser mais ou menos biodisponíveis à decomposição enzimática pelos micro-organismos (HERMAN; McGILL; DORMAAR, 1977; NEAL; LARSON; ATKINSON,

1973; RAHN; LILLYWHITE, 2001). Por estarem intimamente relacionadas (biomassa microbiana e vegetação), a eliminação da cobertura vegetal ocasiona drástica queda no carbono da biomassa microbiana, como revelam estudos envolvendo desmatamentos (CAMPOS, 1998; CERRI; VOLKOFF; EDUARDO, 1985).

### **2.5.2 Atividade enzimática do solo**

As enzimas do solo além de participarem de processos intercelulares importantes na manutenção dos seres vivos desempenham funções como catalisadoras de várias reações que resultam na decomposição de compostos orgânicos (ligninases, celulases, proteases, glucosidases, galactosidases), ciclagem de nutrientes (fosfatases, amidases, urease, sulfatase), formação da matéria orgânica e da estrutura do solo (MENDES et al., 2003). Como indicadores biológicos, são sensíveis na detecção de diferenças entre solos por influência antrópica, porque estão envolvidas com a atividade biológica e, além disso, são de fácil determinação (DICK, 1994; TABATABAI, 1994; TRASAR-CEPEDA, et al., 1998). A atividade enzimática de um solo é o resultado do somatório da atividade enzimática dos organismos vivos (micro-organismos, animais e plantas) e das enzimas associadas à fração não viva (enzimas abiónticas que se acumulam no solo protegidas da ação das proteases através da adsorção em partículas de argila e na matéria orgânica) (DICK, 1994).

As enzimas catalisam reações bioquímicas e são essenciais na ciclagem do C, N, P, e S no solo (NANNIPIERI; KANDELER; RUGGIERO, 2002; SKUJINS, 1978; TABATABAI, 1994; WALLENSTEIN; WEINTRAUB, 2008), contribuem para a descontaminação de solos pela degradação de poluentes orgânicos ou imobilização de metais pesados (NANNIPIERI; KANDELER; RUGGIERO, 2002; NANNIPIERI et al., 2003). De acordo com Taylor et al. (2002), existem duas razões para avaliar as enzimas do solo, primeiramente como informativo do potencial bioquímico e de manipulação do solo, e a outra razão, como indicador de qualidade devido à sensibilidade para prover informações sobre mudanças nas funções-chave do solo. Pelo fato das enzimas serem mediadoras do catabolismo biológico dos componentes orgânico e mineral do solo, a atividade enzimática do

solo possui as características de: i- relacionar-se com a matéria orgânica, com as propriedades físicas e principalmente com a atividade e biomassa microbiana; ii- ser então um indicador de mudanças na qualidade do solo; iii- envolver metodologias simplificadas (DICK, 1997).

Além de serem reguladas indiretamente pelo aumento da produção e secreção pelos micro-organismos, as enzimas extracelulares, podem também ser moduladas diretamente pelas condições físico-químicas do ambiente, tais como teor de carbono orgânico, nitrogênio total, fósforo disponível, força iônica, pH e umidade (NAYAK; BABU; ADHYA, 2007). Devido à sensibilidade, as análises de atividade enzimática no solo têm detectado alterações provocadas pelo uso, manejo ou outras influências antrópicas com maior antecedência do que os atributos físicos e químicos (CHAER; TÓTOLA, 2007; MATSUOKA; MENDES; LOUREIRO, 2003; PASSOS, 2008; SILVA, 2008). Na avaliação da qualidade do solo as enzimas mais comumente analisadas são as hidrolases ligadas aos ciclos dos principais elementos do solo como C, N, P e S (SILVEIRA, 2007).

Dentre essas enzimas as fosfatases são enzimas do solo que catalisam a hidrólise de ésteres de fosfatos, promovendo a sua liberação na forma iônica ( $H_2PO_4^-$ ), que é utilizada pelas plantas e micro-organismos, a partir do P orgânico, tendo papel importante no ciclo do fósforo. Essas enzimas podem ser secretadas por raízes de planta e principalmente por micro-organismos dos solos. Quanto ao pH em que possuem maior atividade, podem ser classificadas em ácidas (pH 4– 6,5), neutras e alcalinas (pH 9-11). A atividade das fosfatases é fortemente influenciada pelos valores de fósforo no solo, de pH, temperatura, pelo conteúdo de matéria orgânica e outros (TABATABAI, 1994). De acordo com Gatiboni et al. (2008), com a diminuição da disponibilidade de fósforo no solo, a quantidade de fósforo armazenada na biomassa microbiana diminui e a atividade de fosfatase aumenta. Esse atributo bioquímico foi utilizado em estudos para avaliar o efeito de diferentes sistemas de manejo e processos de degradação, na qualidade do solo (CARNEIRO et al., 2004, CONTE; ANGHINONI; RHEINHEIMER, 2002, ESTEVAM, 2011, GATIBONI et al. 2008).

Outra enzima comumente encontrada no solo é a  $\beta$ -Glicosidase, que atua na etapa final do processo de decomposição da celulose, ou seja, na hidrólise de celobiose e consequente liberação de glicose, que é uma importante fonte de energia para os micro-organismos (MAKOI; NDAKIDEMI, 2008). Esta enzima pode

ser encontrada em micro-organismos, plantas e células animais, e sua atividade pode ser influenciada pela temperatura do solo e conteúdo de matéria orgânica (TABATABAI, 1994). Em estudo desenvolvido por Chaer e Tótola (2007), dentre os indicadores avaliados, a atividade da enzima  $\beta$ -glicosidase ficou entre os mais sensíveis ao efeito do uso ou manejo do solo.

O S orgânico do solo pode existir como ésteres de sulfato ou ligado ao C, e as sulfatasas são as enzimas responsáveis pela hidrólise desses ésteres para sulfato (KLOSE; TABATABAI, 1999). Essas enzimas são essenciais nos ecossistemas, pois tornam o enxofre (S) orgânico disponível às plantas pela mineralização da matéria orgânica (DAVID et al., 1982). Dentre essas enzimas, as arilsulfatasas têm sido detectadas em inúmeros solos (NAHAS; DELFINO; ASSIS, 1997; PINTO; NAHAS 2002). A atividade da arilsulfatase no solo decresce com a profundidade e com a diminuição do teor de matéria orgânica, pois há uma consequente redução na reserva de ésteres de sulfato que são substratos dessa enzima (BALIGAR; WRIGHT; SMEDLEY, 1988).

### **2.5.3 Diversidade genética e metabólica do solo**

A microbiota do solo apresenta elevada diversidade genética e funcional, entretanto, a maioria das bactérias obtidas de amostras ambientais não pode ser cultivada em meios artificiais (AMANN; LUDWIG; SCHLEIFER, 1995). Neste sentido, os avanços das técnicas moleculares, bioquímicas e fisiológicas para o estudo de comunidades microbianas dos solos, possibilitou avaliar a diversidade, composição e funcionamento destas comunidades complexas (LECKIE, 2005). Segundo Roesch et al. (2007), através do sequenciamento em massa do gene do RNAr 16S avaliando a diversidade bacteriana nos solos, estimaram que um grama de solo pode conter mais de 52.000 espécies.

Essa diversidade pode ser estimada a partir dos extratos de DNA de amostras de solo. Existem diversos métodos moleculares de análise que podem ser diretos ou dependentes da reação em cadeia da polimerase (em inglês, polymerase chain reaction – PCR). Das técnicas moleculares dependentes das reações de PCR atualmente disponíveis, a eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (em

inglês, “denaturing gradient gel electrophoresis” – DGGE) é a mais comumente utilizada (NAKATSU, 2007). A utilização da técnica de DGGE em ecologia microbiana permite a análise simultânea de várias amostras e monitorar a dinâmica complexa da comunidade microbiana do solo e suas flutuações sazonais ou após perturbações ambientais (MUYZER, 1999). Neste sentido, vários estudos têm investigado a influência do manejo do solo sobre a sua estrutura genética (BRESOLIN et al.; 2010; CAMPELO 2008; PEIXOTO et al., 2006; PEIXOTO et al., 2010; SOUZA et al., 2012).

A diversidade metabólica da comunidade microbiana de um solo pode ser definida pela quantidade, tipo e taxa de utilização de diferentes substratos de C, sendo uma consequência da diversidade genética, dos efeitos ambientais e das interações ecológicas entre diferentes populações (ZAK et al., 1994). Vários estudos já demonstraram que com a utilização das placas Biolog EcoPlate<sup>TM</sup>, contendo o indicador tetrazólio e diferentes substratos de C, pode-se observar diferenças significativas na diversidade metabólica de comunidades oriundas de amostras de solo distintas (BERTINI, 2010; FLIEBBACH; MÄDER, 1997; GOMEZ; FERRERAS; TORESANI, 2006 ; SOUZA et al., 2012; TORESANI, 2006; ZAK et al., 1994).

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 ainda estão presentes. 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 (TÓTOLA; CHAER , 2002). Desta forma o potencial fisiológico da comunidade microbiana também pode ser um indicador importante de alterações na qualidade biológica do solo.

Apesar de alguns trabalhos discutirem as limitações do método (PRESTON-MAFHAM.; BODDY; RANDERSON, 2002), além das precauções a serem tomadas com relação à densidade de inócuo inicial, ao tempo e à temperatura de incubação das placas e ao método de extração dos micro-organismos presentes na amostra (CALBRIX; LAVAL; BARRAY, 2005) as informações fornecidas pela análise do padrão de consumo de substrato pela comunidade microbiana são úteis na avaliação da diversidade funcional de micro-organismos em amostras ambientais (CRECCHIO et al., 2004).

Nesse sentido, o presente trabalho apresenta dois estudos realizados para avaliar a qualidade biológica de solos de Cerrado, por análises simultâneas do carbono da biomassa microbiana, respiração basal do solo e da atividade de enzimas relacionadas aos ciclos de C, P e S ( $\beta$ -glucosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, respectivamente) e análise da diversidade por métodos independentes de cultivo. O primeiro estudo apresenta uma avaliação da influência da implantação de modelos de recuperação de áreas degradadas em curto e médio prazo sobre a qualidade biológica do solo e o segundo estudo avalia como o cultivo da cana-de-açúcar em sistemas de manejo orgânico e convencional influencia a qualidade biológica do solo.

## **CAPÍTULO 1**

### **QUALIDADE BIOLÓGICA DE SOLOS DE CERRADO EM ÁREAS DEGRADADAS NO DF E NO MUNICÍPIO DE PARACATU-MG**

## 1 INTRODUÇÃO

Apesar dos vários conceitos, o termo área degradada, sempre está associado à noção de alteração ambiental adversa na maioria das vezes, por atividades humanas. Para Chaer (2008), a degradação do solo é a redução de sua qualidade no que se refere à sua capacidade de desempenhar funções essenciais de suporte aos processos da vida e da regulação do ambiente. Segundo estimativas do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUD), por meio do GLSOD (Global Assessment of Soil Degradation – Projeto de Avaliação Mundial da Degradação do Solo), 15% dos solos do mundo são classificados como degradados devido às atividades humanas. Durante o período de 1981 a 2003, por volta de 22 % dos solos brasileiros foram degradados, considerando em âmbito global, isso representa aproximadamente 5 % de todo o solo degradado (BAI, 2008). Diante dessa realidade, técnicas e estratégias de recuperação de terras degradadas têm sido desenvolvidas e empregadas com o intuito de favorecer os mecanismos naturais que permitem a reação do ecossistema aos diferentes graus de perturbação (CAMPOLLO, 1998).

Além disso, a recuperação de áreas degradadas, através da regeneração natural ou manejada, é uma oportunidade emergente nos mercados de créditos de carbono (NGUGI; JOHNSON; MCDONALD, 2010). De acordo com o Novo Código Florestal brasileiro (Projeto de Lei no 1.876/99), recentemente aprovado pelo Congresso (abril de 2012), os proprietários rurais terão três maneiras de recuperar as áreas degradadas: i- recompor; ii- permitir a regeneração natural; iii- compensar a área de reserva legal na propriedade. Essa lei prevê também linhas de financiamento especiais para atender iniciativas de preservação voluntária de vegetação nativa e recuperação de áreas degradadas.

Desta forma, o monitoramento da qualidade do solo ou substrato possui enorme importância nos programas de recuperação de áreas degradadas, considerando a necessidade de avaliação da eficiência das medidas empregadas em propiciar a melhoria das funções produtivas e ambientais do solo (CHAER, 2008). Para avaliar a qualidade do solo é necessária a seleção e análise de um conjunto de indicadores que podem incluir características físicas, químicas ou biológicas do solo.

Nesse contexto, o uso de indicadores bioquímicos e microbiológicos de qualidade do solo é relevante quando se deseja obter informações sobre o desempenho de funções-chave do solo, como a capacidade de ciclar e armazenar nutrientes (CHAER; TÓTOLA, 2007). Visto que os micro-organismos atuam direta e indiretamente na decomposição da MOS (matéria orgânica do solo) e na promoção e manutenção de diversas propriedades do solo, algumas características das comunidades microbianas do solo podem ser utilizadas como indicadores ecológicos funcionais das perturbações nos ecossistemas ou da restauração da cobertura vegetal (GAMA-RODRIGUES; GAMA-RODRIGUES; FRANCO., 2008; YUSUF et al., 2009).

Entre as características microbiológicas do solo, a biomassa microbiana, por constituir a maior parte da fração ativa da MOS, tem sido considerada um indicador sensível e eficiente de recuperação de solos sob algum grau de degradação (BASTIDA et al, 2006; MARTINS et al., 2010; NUNES et al., 2012; YADAV, 2012). Neste sentido, Gama-Rodrigues, Gama-Rodrigues e Franco (2008), estudando três diferentes tipos de cobertura vegetal em área em restauração e duas coberturas de referência, observaram que o carbono da biomassa microbiana (CBM) foi mais discriminante que o carbono orgânico do solo em aferir a dissimilaridade entre as coberturas vegetais.

Além de parâmetros microbiológicos relacionados à biomassa de micro-organismos no solo, a avaliação da atividade e diversidade da comunidade microbiana também possibilita monitorar mudanças no manejo do sistema solo-planta. Nessa perspectiva, há poucos estudos sobre a atividade enzimática (BALDRIAN, 2008; CARAVACA; MASCIANDARO; CECCANTI. 2002; CARNEIRO et al., 2008a; SANTOS et al., 2011) e diversidade microbiana (BERTINI, 2010; BRESOLIN et al., 2010; GIAI; BOERNE, 2007; GRAHAM; HAYNES, 2004) em solos degradados ou sob algum processo de recuperação.

O objetivo deste trabalho foi avaliar como a implantação de modelos de recuperação de áreas degradadas influencia em curto e médio prazo a qualidade biológica de solos de cerrado, representada por análises simultâneas do carbono da biomassa microbiana, respiração basal do solo e da atividade de enzimas relacionadas aos ciclos de C, P e S ( $\beta$ -glucosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, respectivamente). Os efeitos de um modelo de recuperação de áreas degradadas

sobre o perfil genético e metabólico das comunidades bacterianas de solos de Cerrado também foi avaliado.

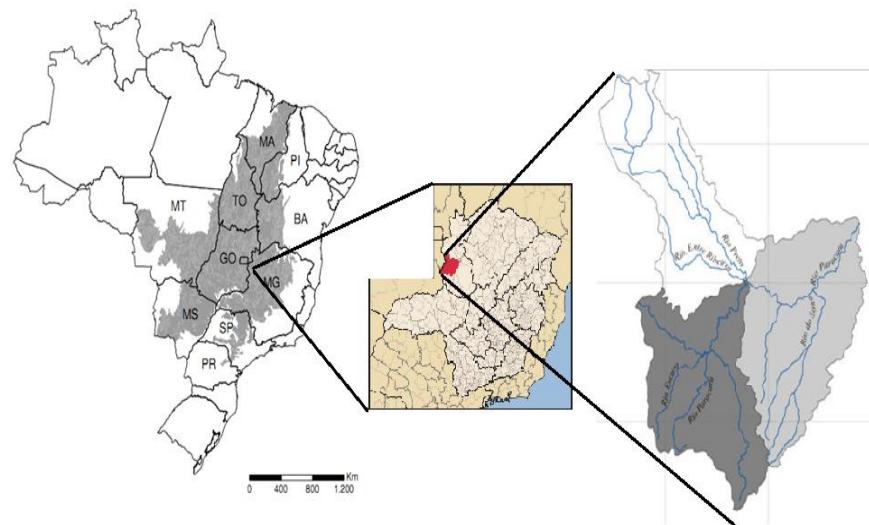
## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO

O estudo foi conduzido em três locais, sendo dois no município de Paracatu-MG e um em Brasília-DF.

No município de Paracatu-MG (Figura 2) foram selecionadas duas fazendas onde o Centro de Referência em Recuperação de Áreas Degradadas (CRAD – UnB) e o Instituto Estadual de Florestas – IEF/MG, desenvolvem modelos para recuperação de áreas degradadas na bacia do São Francisco no bioma Cerrado. Nas duas fazendas selecionadas foram implantados Modelos Demonstrativos de Recuperação tendo como prioridade a utilização de espécies nativas do bioma Cerrado e de uso múltiplo.

**Figura 2-** Mapas da região do estudo, no município de Paracatu-MG, e da bacia hidrográfica da região.



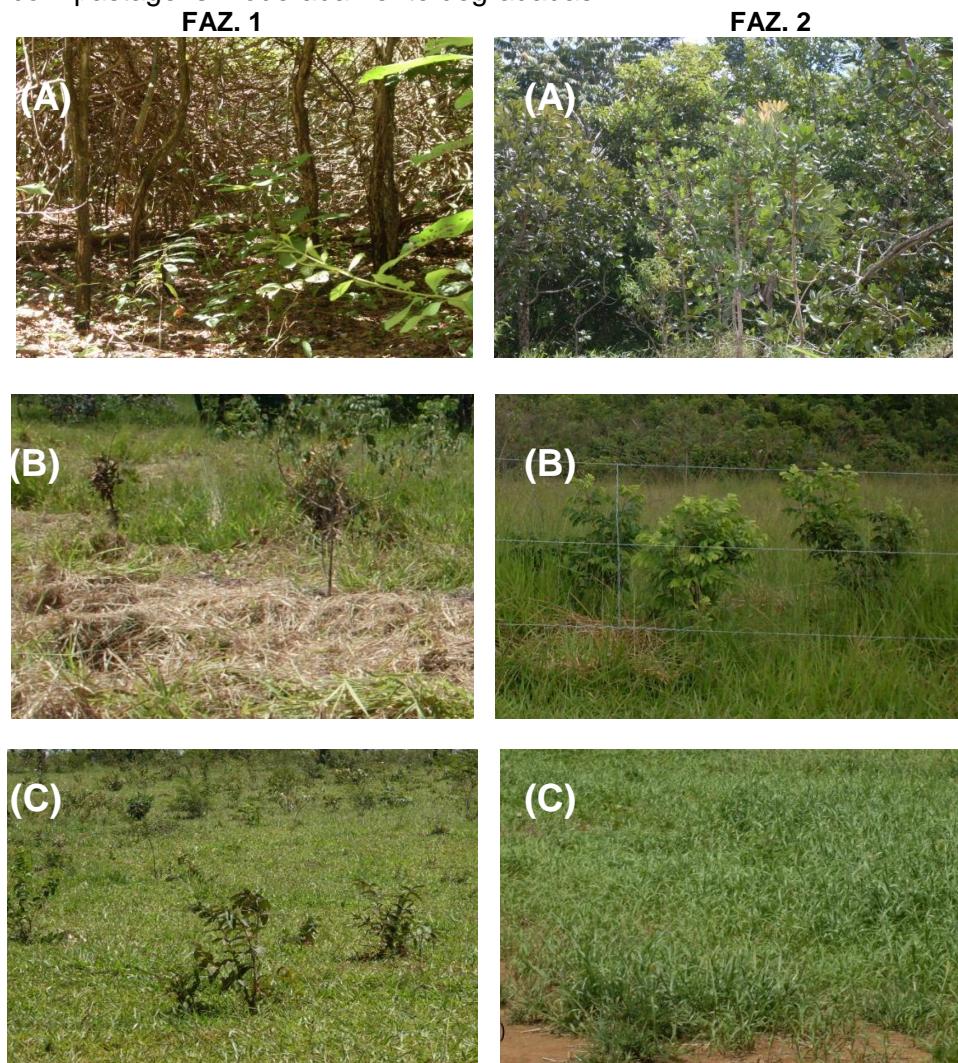
Fonte: modificados de IBGE (2004).

As mudas foram produzidas no viveiro do CRAD-UnB e no Viveiro do IEF-MG. Para o plantio das mesmas, foram feitas covas circulares com auxílio de trator e perfuratriz de 40 cm de diâmetro e 40 cm de profundidade e covas manuais feitas por enxadões. Em cada cova, com espaçamento de 3 m x 3 m, foi feita adubação orgânica com esterco de gado (2L por cova) e 100g de NPK (4-30-16). O plantio foi

realizado de forma aleatória, onde foram usadas aproximadamente 29 espécies diferentes (Anexo A). Dentre as espécies foram priorizadas aquelas de uso múltiplo, medicinais e alimentares, que diferiam quanto ao ambiente natural de ocorrência, sendo típicas de diferentes fitofisionomias do bioma Cerrado.

Na Fazenda 1 o sistema de recuperação foi implantado em 2008/2009, e na Fazenda 2 em 2009. Nas duas fazendas os modelos de recuperação foram estabelecidos em áreas de proteção permanente (APPs) inadequadamente ocupadas por pastagens e onde era visível o afloramento do lençol freático (áreas de recarga hídrica). Essas áreas foram isoladas por meio de cercas e devido ao curto período de implantação dos modelos de recuperação (2 anos) as mudas apresentavam porte pequeno (inferior a 1m de altura) e havia predominância de *Brachiaria decumbens* (Figura 3).

**Figura 3-** Visão geral das áreas amostradas em Paracatu-MG. Fazenda 1 (FAZ. 1); Fazenda 2 (FAZ. 2). (A) Áreas com vegetação nativa de Cerrado; (B) áreas em recuperação; (C) áreas com pastagens moderadamente degradadas.



Em cada fazenda, além das áreas em recuperação também foram avaliadas áreas adjacentes sob pastagem de *Brachiaria decumbens* com sinais moderados de degradação tais como compactação do solo e presença de cupinzeiros (representando a condição inicial do solo antes da implantação do modelo de recuperação) e áreas não perturbadas sob vegetação nativa de Cerrado que foram utilizadas como referência das condições originais do solo. Nas duas fazendas os solos predominantes nas áreas sob vegetação nativa e sob pastagem eram do tipo Latossolo Vermelho. Nas áreas onde foram implantados os modelos de recuperação o solo representava uma transição de latossolo para solos hidromórficos, assim durante as amostragens nestas áreas foram coletados solos apenas nas áreas secas.

Em Brasília-DF, o estudo foi realizado no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), localizado na porção sudoeste da cidade. O clima da região é estacional, classificado como CWa, temperado quente com inverno e verão bem definidos, (KOPPEN, 1948). A área onde o estudo foi conduzido possui o formato circular com 500 m de raio, com um total de 78,5 ha (Figura 4).

**Figura 4-** Localização das áreas de estudo no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), Brasília, DF. RE= área em recuperação, DE = área degradada e CER = Cerrado preservado. Imagens retiradas do Google Earth em abril de 2011.

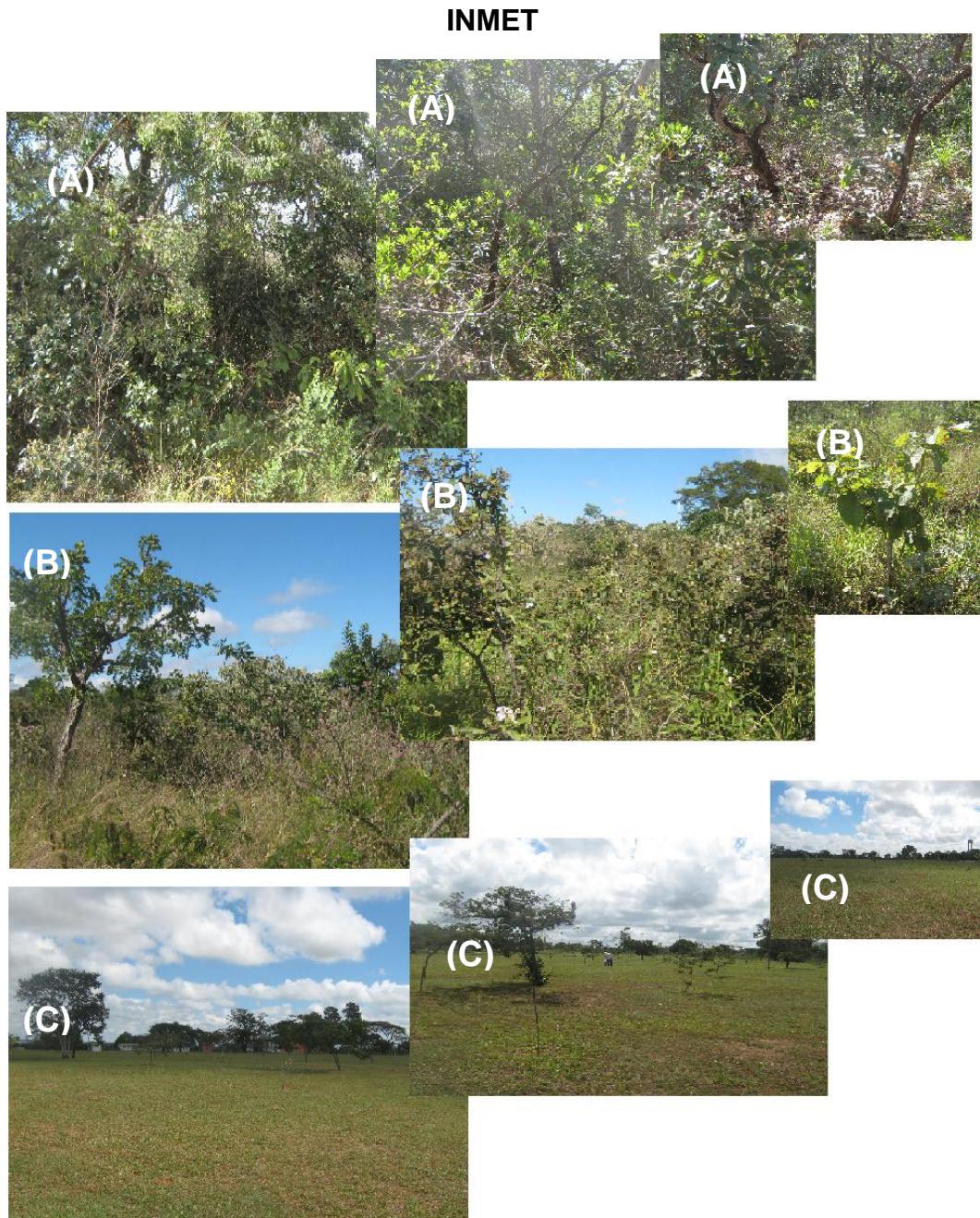


Durante a construção do INMET, em meados dos anos 1970, a vegetação original foi removida para dar lugar à urbanização. Boa parte da vegetação remanescente que deveria ser preservada foi também removida, resultando em locais abertos ao centro e um fragmento de Cerrado Típico na borda da área.

O Modelo Demonstrativo de Recuperação, com espécies de uso múltiplo, foi implantado em 2004. Foi realizado um plantio de mudas pertencentes a 19 espécies (Anexo B), em uma área perturbada de 75 x 90 m (6.750 m<sup>2</sup>) adjacente ao remanescente de Cerrado sentido restrito, dominada por *Brachiaria* sp. Antes da realização dessa prática, removeram-se essas plantas do local com capinas. Após a retirada da braquiária foram abertas covas de 0,40 m de diâmetro e 0,60 m de profundidade com o auxílio de trator. Ao solo de cada cova foram adicionados 1 Kg de esterco bovino, 100 g de calcário dolomítico e 150 g de NPK na formulação 4-14-8. Para minimizar a possível compactação provocada pela atividade do trator na área, realizou-se o revolvimento superficial do solo (para mais detalhes consultar Aquino et al., 2009).

As amostras de solo foram coletadas na área com Modelo Demonstrativo de Recuperação, em uma área adjacente (área degradada) onde a vegetação nativa foi removida e substituída por área urbanizada e recoberta com gramado dominado por braquiárias (*Brachiaria* sp.) constantemente aparados, e uma área de Cerrado sentido restrito preservado utilizada como referência (Figura 5). O solo original da área é do tipo Latossolo Vermelho.

**Figura 5-** Visão geral das áreas amostradas em Brasília-DF, no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). (A) Áreas com vegetação nativa de Cerrado; (B) áreas em recuperação; (C) áreas degradadas.



As propriedades químicas dos solos das áreas de Paracatu-MG e de Brasília-DF, são apresentadas na tabela 2.

**Tabela 2-** Propriedades químicas de solos sob degradação (profundidade de 0 -10 cm), em processo de recuperação e sob Cerrado nativo, em Paracatu-MG (amostragem de 2010) e Brasília (amostragem de 2011).

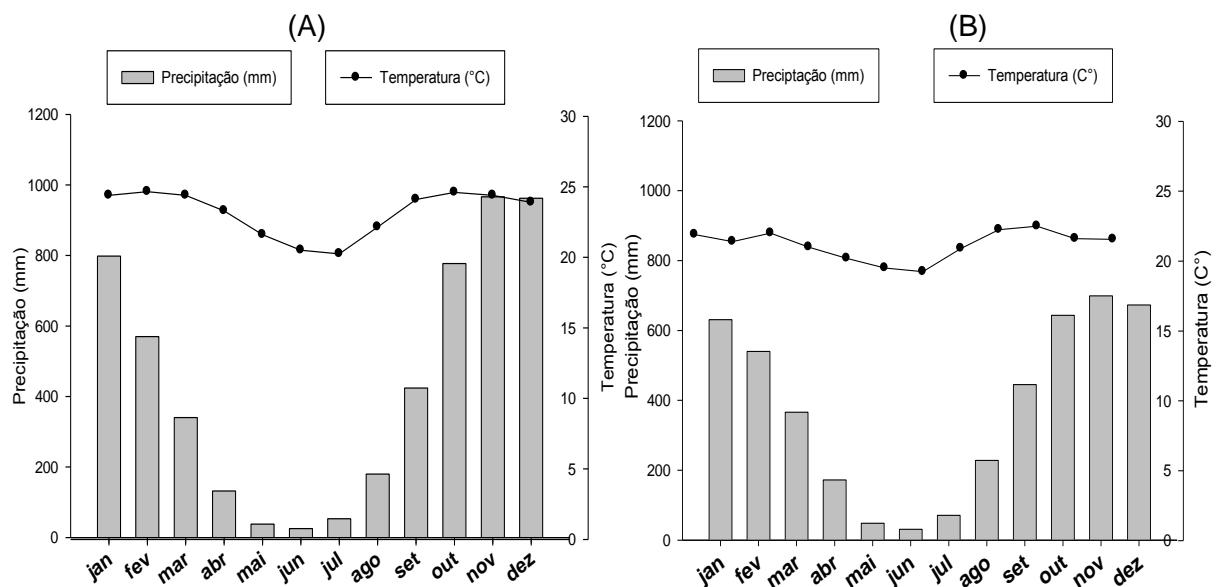
Áreas	pH (H <sub>2</sub> O)	P	K	Al	Ca	Mg						
<b>Paracatu 2010</b>												
<b>FAZ 1</b>												
Pastagem	5,3	1,6	115	1,2	0,3	0,3						
Recuperação	5,4	4,6	79	1,1	0,2	0,2						
Cerrado	4,8	3,0	60	2,0	0,2	0,2						
<b>FAZ 2</b>												
Pastagem	5,5	0,8	25	0,2	0,8	0,4						
Recuperação	5,4	5,8	46	0,2	1,0	0,5						
Cerrado	5,3	0,6	27	0,6	0,2	0,03						
<b>INMET</b>												
<b>Brasília 2011</b>												
Degradada	4,7	1,1	27	0,9	0,3	0,2						
Recuperação	4,6	1,4	26	0,8	0,3	0,2						
Cerrado	4,4	1,3	50	1,3	0,1	0,2						

**FAZ.1** – fazenda 1; **FAZ. 2** – fazenda 2; **INMET** – Instituto Nacional de Meteorologia .Ca, Mg e Al foram extraídos com KCl 1N e determinados por absorção atômica (Ca e Mg) e titulação com NaOH 0,025 M (Al); P e K foram extraídos com Mehlich 1 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0125 M + HCl 0,05 M) e determinados através de espectrofotometria de ionização de chama (K) e usando o método do azul de Mo (P); conforme descrito em EMBRAPA, 1997.

## 2.2 COLETAS E ANÁLISES DE AMOSTRAS DE SOLO

As áreas selecionadas para o estudo realizado em Paracatu-MG foram amostradas duas vezes durante um período de aproximadamente um ano, nas datas de 28 e 29/03/2010 e 18/04/2011, sempre na estação chuvosa. As amostras de solo foram coletadas, na profundidade 0-10 cm, com auxílio de um trado holandês. Já na área localizada em Brasília-DF, houve apenas uma amostragem no final do período chuvoso na data de: 27/04/2011. Os dados de precipitação média trimestral são apresentados na figura 6.

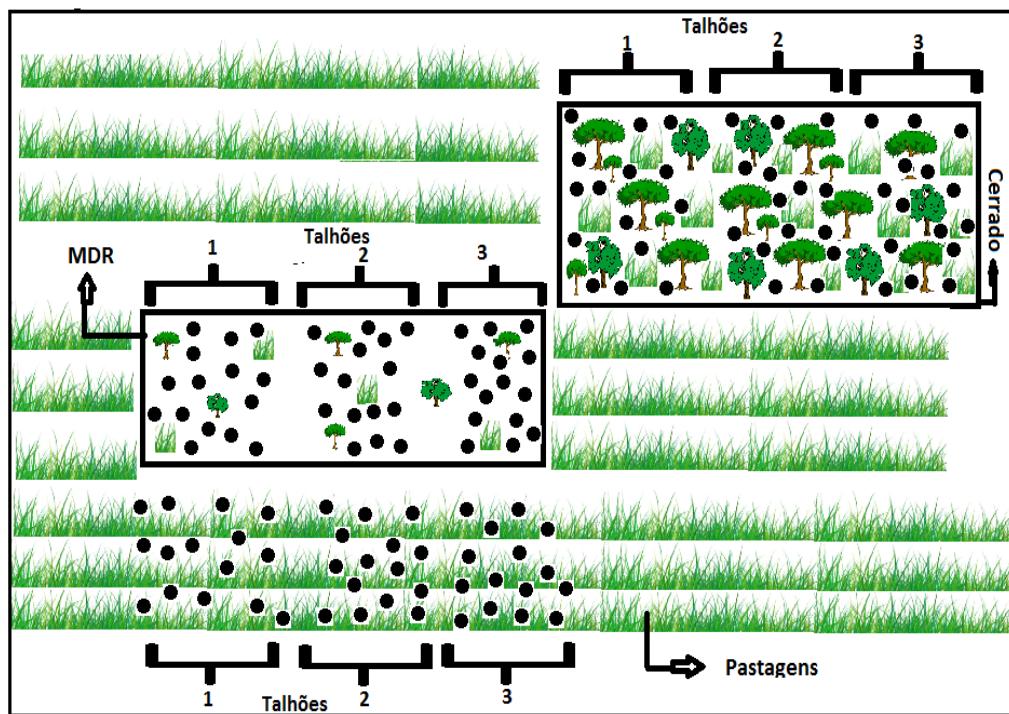
**Figura 6**– Distribuição das médias mensais de precipitação (1961-2010) e temperatura (2010-2011). (A) Paracatu-MG. (B) Brasília-DF.



Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET)

Cada área amostrada foi dividida em três talhões. Em cada talhão foram coletadas amostras de solos em 15 pontos (Figura 7). As sub-amostras foram homogeneizadas formando-se uma única amostra por parcela. A porção de solo destinada para as análises microbiológicas foi peneirada em malha de 4 mm e acondicionada em geladeira (7º C) até o momento das análises, iniciadas no máximo em uma semana após a amostragem. A porção de solo destinada às análises químicas foi seca ao ar e peneirada em malha de 2 mm.

**Figura 7-** Representação esquemática da coleta de amostras de solos nas fazendas com Modelo de recuperação demonstrativo implantado em Paracatu-MG, nas áreas degradadas (pastagem), em recuperação (MDR) e de referência (Cerrado), os pontos pretos representam os pontos de coleta (15 pontos em cada talhão).



## 2.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

### 2.3.1. Carbono da Biomassa Microbiana (CBM)

Para a estimativa do CBM do solo foi utilizado o método de fumigação-extracção (CFE), proposto por Vance; Brookes; Jenkinson (1987). Para cada amostra utilizaram-se três repetições fumigadas com clorofórmio (F) e três repetições não-fumigadas (NF). Após a coleta no campo, o teor de umidade das amostras contendo 20g de solo foi elevado a 90% da capacidade de campo, quando necessário, e estas foram pré-incubadas, no escuro e à temperatura ambiente, por um período de sete dias. No sexto dia de pré-incubação, metade das amostras foram fumigadas por 48 horas em um dessecador, contendo uma placa de Petri com 25 ml de clorofórmio livre de álcool. Durante este período, as amostras não-fumigadas foram mantidas à temperatura ambiente. O carbono da biomassa microbiana do solo foi extraído pela adição de 50ml de uma solução de sulfato de potássio ( $K_2SO_4$  - 0,5 mol L<sup>-1</sup>) às amostras de solo, que em seguida foram submetidas à agitação horizontal (150rpm) por 40 minutos. Após a filtragem das amostras com o papel filtro Whatman n.º 2, adicionou-se 2ml de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$  - 0,4 mol L<sup>-1</sup>) e 15 ml de solução ácida ( $H_2SO_4$  – 99% e  $H_3PO_4$  85%) numa proporção de 1:2 em erlenmeyers de 250ml. As amostras foram fervidas sob refluxo por 30 minutos, acrescentando-se 20ml de água destilada. O dicromato residual foi determinado pela titulação com uma solução de sulfato ferroso amoniacial [ $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  0,033 mol L<sup>-1</sup>] em ácido sulfúrico concentrado, na presença de um indicador composto por fenantrolina (0,075 mol L<sup>-1</sup>) e sulfato ferroso (0,041 mol L<sup>-1</sup>). A quantidade de CBM foi determinado pela diferença entre o carbono orgânico extraído das amostras de solo fumigadas e não fumigadas, usando um fator de correção (Kc) igual a 0,35 conforme (JOERGENSEN, 1995). Os resultados da medição do CBM foram expressos em mg C kg<sup>-1</sup> de solo.

### **2.3.2. Respiração basal e quociente metabólico**

Foi utilizado o método da respirometria (evolução de CO<sub>2</sub>) nas amostras não-fumigadas destinadas a análise de CBM, com a umidade das amostras de solo ajustadas para 90% de sua capacidade de campo. As amostras de 20 g em triplicatas foram colocadas em recipientes hermeticamente fechados, individualmente, onde o C-CO<sub>2</sub> produzido foi captado por uma solução de KOH 0,3 mol L<sup>-1</sup>. Após um período de incubação de sete dias, o C-CO<sub>2</sub> foi quantificado por titulação com HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, acrescentando-se uma solução saturada de BaCl<sub>2</sub> (1 mol L<sup>-1</sup>) para precipitação de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. O resultado foi expresso em mg de C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>. Foi determinado o quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) pela relação da respiração microbiana/biomassa microbiana.

### **2.3.3. Atividade enzimática**

As atividades das enzimas β-glicosidase (E.C. 3.2.1.21), fosfatase ácida (E.C. 3.1.3.2) e arilsulfatase (E.C.3.1.6.1) foram determinadas de acordo com Tabatabai (1994), com exceção de que não houve adição de tolueno. Esse método se baseia na determinação colorimétrica do *p*-nitrofenol liberado por essas enzimas após a adição de substratos específicos a amostras de 1g de solo. Alíquotas de 1 mL de soluções tamponadas e incolores de 0,05-M *p*-nitrofenil-β-D-glucopiranosideo (PNG), 0,05-M *p*-nitrofenil-fosfato (PNP) e 0,05-M *p*-nitrofenil-sulfato (PNS) foram utilizadas como substratos para as enzimas β-glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, respectivamente. Para cada amostra foram realizadas duas repetições analíticas mais um controle (branco), no qual foi adicionado o substrato somente após o período de incubação. Após uma hora de incubação a 37°C, o *p*-nitrofenol (coloração amarela) liberado foi extraído por filtração e determinado colorimetricamente a 410 nm. Para a determinação da quantidade de *p*-nitrofenol liberada por cada amostra foi utilizada, como base, uma curva padrão preparada com concentrações conhecidas de *p*-nitrofenol (0, 10, 20, 30, 40 e 50 µg de *p*-

nitrofenol  $\text{mL}^{-1}$ ). A atividade enzimática do solo é expressa em microgramas de p-nitrofenol liberado por hora por grama de solo seco ( $\mu\text{g p-nitrofenol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  solo).

#### **2.3.4. Matéria Orgânica do Solo (MOS)**

Os teores de matéria orgânica foram determinados utilizando-se o método de Walkley & Black (Nelson & Sommers, 1982). Utilizou-se 0,5 g das amostras de solo destinadas às análises químicas. Estas foram distribuídas em erlenmeyers, onde adicionou-se 10 ml de uma solução de dicromato de potássio ( $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ) e em seguida 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Após 30 minutos adicionou-se 200 ml de água destilada para aumentar a alíquota e facilitar o processo de titulação. Depois de 30 minutos cada amostra foi titulada com sulfato ferroso amoniacial ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ), até a viragem para a cor verde.e a matéria orgânica facilmente oxidável foi calculada segundo Jackson (1970).

#### **2.3.5 Determinação do perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas**

A diversidade metabólica foi determinada com a utilização de microplacas ECOPLATE® (Biolog, Inc. Hayward, USA) de acordo com Fließbach e Mäder (1997), com algumas alterações. Essa análise foi aplicada somente nas amostras de Brasília-DF (INMET). Cada microplaca contém 31 fontes de carbono com 3 repetições, amplamente utilizadas por micro-organismos do solo e similares a fontes de C encontradas normalmente no solo, e um poço sem nenhuma fonte de carbono (controle negativo, com água), além do corante tetrazólio violeta (Figura 8).

**Figura 8** - Esquema demonstrativo da localização das 31 fontes de carbono diferentes e controles em uma microplaca Biolog-Ecolog.

A1 Água	A2 $\beta$ -Metil-D- Glucosideo	A3 D-Ácido Galactônico $\gamma$ -Lactona	A4 L-Arginina	A1 Água	A2 $\beta$ -Metil-D- Glucosideo	A3 D-Ácido Galactônico $\gamma$ -Lactona	A4 L-Arginina	A1 Água	A2 $\beta$ -Metil-D- Glucosideo	A3 D-Ácido Galactônico $\gamma$ -Lactona	A4 L-Arginina
B1 Ácido Pirúvico Éster Metílico	B2 D-Xilose	B3 D-Ácido Galacturônico	B4 L-Asparagina	B1 Ácido Pirúvico Éster Metílico	B2 D-Xilose	B3 D-Ácido Galacturônico	B4 L-Asparagina	B1 Ácido Pirúvico Éster Metílico	B2 D-Xilose	B3 D-Ácido Galacturônico	B4 L-Asparagina
C1 Tween 40	C2 i-Eritritol	C3 2-Ácido Hidróxi- benzólico	C4 L- Fenilalanina	C1 Tween 40	C2 i-Eritritol	C3 2-Ácido Hidróxi- benzólico	C4 L- Fenilalanina	C1 Tween 40	C2 i-Eritritol	C3 2-Ácido Hidróxi- benzólico	C4 L- Fenilalanina
D1 Tween 80	D2 D-Manitol	D3 4-Ácido Hidróxi- benzólico	D4 L-Serina	D1 Tween 80	D2 D-Manitol	D3 4-Ácido Hidróxi- benzólico	D4 L-Serina	D1 Tween 80	D2 D-Manitol	D3 4-Ácido Hidróxi- benzólico	D4 L-Serina
E1 $\alpha$ - Ciclodextrina	E2 N-Acetyl-D- Glucosamina	E3 $\gamma$ -Ácido Hidróxi- butírico	E4 L-Treonina	E1 $\alpha$ - Ciclodextrina	E2 N-Acetyl-D- Glucosamina	E3 $\gamma$ -Ácido Hidróxi- butírico	E4 L-Treonina	E1 $\alpha$ - Ciclodextrina	E2 N-Acetyl-D- Glucosamina	E3 $\gamma$ -Ácido Hidróxi- butírico	E4 L-Treonina
F1 Glicogênio	F2 D-Ácido Glucosaminico	F3 Ácido Itacônico	F4 Glicil-L- Ácido glutâmico	F1 Glicogênio	F2 D-Ácido Glucosaminico	F3 Ácido Itacônico	F4 Glicil-L- Ácido glutâmico	F1 Glicogênio	F2 D-Ácido Glucosaminico	F3 Ácido Itacônico	F4 Glicil-L- Ácido glutâmico
G1 D-Celobiose	G2 Glicose-1- Fosfato	G3 Ácido $\alpha$ - Ketobutírico	G4 Feniletilamina	G1 D-Celobiose	G2 Glicose-1- Fosfato	G3 Ácido $\alpha$ - Ketobutírico	G4 Feniletilamina	G1 D-Celobiose	G2 Glicose-1- Fosfato	G3 Ácido $\alpha$ - Ketobutírico	G4 Feniletilamina
H1 $\alpha$ -D-Lactose	H2 D,L- $\alpha$ - Glicerol Fosfato	H3 D-Ácido Málico	H4 Putrescina	H1 $\alpha$ -D-Lactose	H2 D,L- $\alpha$ - Glicerol Fosfato	H3 D-Ácido Málico	H4 Putrescina	H1 $\alpha$ -D-Lactose	H2 D,L- $\alpha$ - Glicerol Fosfato	H3 D-Ácido Málico	H4 Putrescina

Foram adicionadas 10g de solo em 90ml de solução salina (0,5% NaCl), posteriormente agitados à 150 rpm por 30 minutos. Após a agitação, fez-se uma diluição seriada (2ml em 18ml de sol. salina, 0,9% NaCl) até  $10^{-3}$  que foi a diluição utilizada para inoculação nas placas. Com isso, 120 $\mu$ L desta suspensão foram transferidos para cada poço das microplacas, que em seguida foram incubadas a 28°C. Foram realizadas, a cada 12 horas, leituras em espectrofotômetro leitor de microplacas Biochrom Asys UVM 340, (Biochrom Ltd., Cambridge, Reino Unido) a 590 nm, até obtenção de média de desenvolvimento de cor (“average well color development”, AWCD) de 0,8–1,0 unidade de absorbância para cada placa, conforme adaptado de Garland e Mills (1991) e Zak et al. (1994). Para minimizar possíveis efeitos de diferença de inóculo entre as amostras, os dados obtidos de cada placa foram normalizados pela divisão dos valores brutos de absorbância de cada poço pelo AWCD (GARLAND; MILLS, 1991). Os valores encontrados de absorbância, oriundos da utilização de cada fonte de carbono presente nas microplacas, foram utilizados para acessar informações sobre a estrutura metabólica das comunidades bacterianas, assim como, calcular os índices de diversidade de

Shannon (H) e a riqueza de substratos (S) (ZAK et al., 1994). O valor S refere-se ao número de diferentes substratos que podem ser utilizados pela comunidade microbiana, enquanto o valor H comprehende tanto a riqueza de substratos como a intensidade com que as fontes de C são utilizadas pela microbiota do solo e foi calculado utilizando a equação:

$$H = -\sum p_i (\ln p_i)$$

Onde,  $p_i$  é a razão entre a atividade de utilização de determinado substrato e a atividade de utilização de todos substratos.

A eqüitabilidade de substratos (E), que mede a uniformidade de utilização de um substrato em relação ao número de substratos utilizados pela microbiota, foi calculada de acordo com a equação:

$$E = \frac{H}{\ln S}$$

Onde, S é o número de substratos utilizados e H é o índice de diversidade de Shannon.

### 2.3.6 Extração de DNA da microbiota diretamente do solo

As análises de DNA (extração, amplificação e DGGE) foram aplicadas somente nas amostras de Brasília-DF (INMET). Para a extração de DNA da microbiota do solo foi utilizado o kit MO Bio Ultra Clean Soil DNA Isolation (BIOzymTC, Landgraaf, The Netherlands) conforme o protocolo descrito pelo fornecedor. Após a extração, a presença e a integridade do DNA foram verificadas em gel de agarose 0,8% corado com brometo de etídio ( $C_{21}H_{20}BrN_3$ , 2  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e visualizados sob luz UV, seguindo protocolo estabelecido por Nübel et al. (1996). O tamanho do DNA foi estimado por comparação com o marcador 1kb DNA ladder (Invitrogen).

### **2.3.7 Amplificação do gene do RNAr 16S**

Cada amostra do DNA extraído do solo foi amplificada em um volume final de 50 $\mu$ L, contendo 5  $\mu$ L de tampão (10x), 4  $\mu$ L de dNTPs (0,25 mM), 2  $\mu$ L de cada um dos primers (U968f-GC e L1401r, 5 pmol  $\mu$ L $^{-1}$ ) (HEUER et al., 1997), 0,5  $\mu$ L de Taq DNA polimerase (2,5U) (GE Healthcare), 1  $\mu$ L de DNA molde (30 ng) e 35,5  $\mu$ L de água milli Q estéril. As condições de amplificação consistiram em uma etapa inicial de desnaturação a 94 °C por 4 min; seguida de 25 ciclos de 94 °C por 1 min, 47 °C por 1,5 min e 72 °C por 1min, mais a extensão final a 72 °C por 15 min. As reações de amplificação foram realizadas em um termociclador MyCycler (BioRad Inc.), de acordo com Heuer et al. (1997) e Lovell et al. (2000) e os produtos de amplificação ( $\cong$  433 kb) foram submetidos a eletroforese em gel de agarose 1,0%, corados com brometo de etídeo e visualizados sob luz UV. O tamanho do DNA amplificado foi comparado com o marcador de peso molecular 1kb DNA ladder (Invitrogen).

### **2.3.8 Eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE)**

Foi utilizado o sistema de eletroforese vertical (BioRad DCode System-Universal Mutation Detection System) com placa de 20 X 20 cm, espaçador 1,0 mm, conforme instruções do fabricante. O gradiente de desnaturantes de uréia-formamida utilizado foi de 50% a 70%, em gel de poliacrilamida 6%. Em cada “poço” foram aplicados 30 $\mu$ l de produto de PCR + 5 $\mu$ l de tampão de carregamento 1X (“Gel Loading Solution”, Sigma). A eletroforese foi realizada em tampão tris-acetato-EDTA 1X (TAE) a 60°C por 18h a 70 V. Após o término da corrida, o gel foi corado por 60 min em SYBR Green I (Molecular Probes, Leiden, The Netherlands) e observado/fotografado sob luz UV.

## 2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

### 2.4.1 Propriedades microbiológicas

Os dados de carbono da biomassa microbiana, respiração basal, quociente metabólico e de atividade enzimática do solo foram submetidos a análise de variância, utilizando o PROC GLM do SAS 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, EUA). As comparações entre médias foram avaliadas pelo teste de Turkey ao nível de 5% de probabilidade.

Para cada um dos três locais (Fazenda 1 e Fazenda 2 em Paracatu e área do INMET em Brasília) também foram utilizadas técnicas multivariadas para avaliar os efeitos dos diferentes manejos sobre a qualidade biológica do solo (QBS), definida aqui como sendo a ordenação multivariada dos seis atributos microbiológicos avaliados (CBM, respiração basal, quociente metabólico,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase). A dispersão dos escores obtidos para cada um dos sistemas de manejo em um sistema de eixos cartesianos, representado pelos componentes principais, permite visualizar as semelhanças entre os tratamentos com base nas seis variáveis analisadas, maximizando o aproveitamento da variabilidade disponível. Essas figuras mostram a representação gráfica das áreas degradadas, em recuperação e de referência de acordo com as similaridades quanto aos atributos biológicos dos solos considerados na matriz primária (CBM, respiração basal,  $qCO_2$  e atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida). Nas figuras, os atributos biológicos avaliados são representados na forma de raios. Quanto maior o comprimento desses raios, mais correlacionada é a variável com o eixo ao qual é paralela. Raios oblíquos correlacionam-se com os dois eixos. Antes da análise, os dados foram normalizados por totais dentro de cada variável para eliminar as diferenças nas unidades das variáveis. A matriz de dados normalizados composta pelos seis atributos microbiológicos foi chamada matriz QBS. Utilizou-se uma matriz de correlação onde todas as variáveis incluídas na análise possuem pesos iguais, independentemente das unidades de medidas empregadas ou da ordem de grandeza de seus valores. A ordenação foi realizada utilizando o PC-ORD v. programa 4,0 (MCCUNE; MEFFORD, 1999).

#### **2.4.2. Perfil e diversidade metabólica das comunidades bacterianas**

Depois de normalizados, os valores de absorbância, obtidos a partir da utilização de cada fonte de carbono presente nas microplacas, foram ordenados por meio da análise “non-metric multidimensional scaling” (NMS), com base na distância de Sørensen determinada com uso do programa PC-ORD 4.0 (MjM Software, Oregon- USA). A ordenação bidimensional resultante foi representada graficamente, e as diferenças significativas entre o perfil metabólico das comunidades bacterianas foram analisadas por meio do método multivariado de comparação entre médias, conhecido como “multi-response permutation procedures” (MRPP), conforme Peixoto et al. (2010).

#### **2.4.3. Estrutura genética das comunidades bacterianas**

Os perfis de bandas gerados pela DGGE foram analisados por meio do programa GelCompar II (Applied Maths, 2012), tendo-se utilizado o coeficiente de Jaccard. Para o agrupamento e a construção do dendrograma de similaridade, utilizou-se o algoritmo “unweighted pair-group method with arithmetic mean” (UPGMA).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO E ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS – Fazendas de Paracatu

Embora os modelos de RAD estabelecidos nas duas fazendas do município de Paracatu estivessem no período inicial de implantação (as amostragens de 2010 e 2011 ocorreram, respectivamente, 2 e 3 anos após o plantio das mudas e isolamento das áreas) verificou-se que as áreas sob plantio de recuperação apresentaram, em relação às áreas de pastagem com moderada degradação, aumentos pontuais no CBM (Fazendas 1 e 2 amostragem de 2010), respiração basal e atividade da  $\beta$ -glicosidase (Fazenda 1, amostragens de 2010 e 2011), conforme apresentado na tabela 3. A atividade da arilsulfatase foi o único atributo biológico que consistentemente apresentou maiores atividades nas áreas sob recuperação, quando comparado às áreas de pastagem com moderada degradação nos dois anos de amostragem, nas duas fazendas em Paracatu. Na Fazenda 1, esses aumentos podem estar relacionados em grande parte ao fato de que os teores de MOS nas áreas de cerrado nativo (referência) e sob recuperação (em média  $71 \text{ g kg}^{-1}$ ), eram o dobro dos valores determinados na pastagem sob moderada degradação. Entretanto, na Fazenda 2 onde as três áreas não diferiram quanto aos teores de MOS (em média  $38 \text{ g kg}^{-1}$ ) esses aumentos evidenciam a sensibilidade de alguns indicadores microbiológicos para detectar mudanças que ocorrem no solo antes que alterações nos teores de MOS sejam observados.

Na amostragem de 2010, as áreas em recuperação nas Fazendas 1 e 2 apresentaram teores de CBM que superaram as áreas de pastagem com moderada degradação, enquanto na amostragem de 2011 essas diferenças não foram observadas. Em relação às áreas sob vegetação nativa usadas como referência, verificou-se que, com exceção da Fazenda 2, os maiores valores de CBM foram encontrados nas áreas sob Cerrado nativo (Tabela 3).

Os dados de respiração basal não apresentaram uma tendência clara e os locais avaliados apresentaram resultados distintos. Em Paracatu, na Fazenda 1 a área em recuperação, apresentou valores de respiração basal 60% superiores

(média dos dois anos de amostragem) aos das áreas de pastagem com moderada degradação e de referência. Na Fazenda 2, em 2010 a área de pastagem foi semelhante à área de referência e ambas não diferiram da área em recuperação. Em 2011 a área com pastagem da Fazenda 2 apresentou maior respiração que a área em recuperação e a área de referência, que não diferiram entre si.

O  $qCO_2$  expressa a relação entre a respiração basal e o CBM. Em geral, baixos de valores de  $qCO_2$  são observados em áreas próximas ao estado de equilíbrio enquanto valores elevados indicam uma biomassa microbiana menos eficiente na incorporação de carbono, sendo este perdido em maior quantidade na forma de  $CO_2$  (TÓTOLA; CHAER, 2002). Nas amostragens realizadas em 2010 e 2011 na Fazenda 1, a área em recuperação apresentou  $qCO_2$  semelhante ao da pastagem e superior ao da área nativa usada como referência. Na Fazenda 2 não houve uma tendência clara com relação ao  $qCO_2$ . Na amostragem de 2010 o  $qCO_2$  da área em recuperação não diferiu da pastagem e foi inferior ao do cerrado. Na amostragem de 2011, o  $qCO_2$  da pastagem superou a área em recuperação e o cerrado, os quais não diferiram entre si.

Nas amostragens realizadas na Fazenda 1 em 2010 e 2011, a área de pastagem com moderada degradação, apresentou em relação a área em recuperação, reduções de 23 e 30% nos níveis de atividade da enzima  $\beta$ -glicosidase, respectivamente (Tabela 3). Em relação à área de referência (não perturbada), em 2010 a atividade da  $\beta$ -glicosidase na área em recuperação foi 1,3 vezes maior e em 2011 não diferiu. Na fazenda 2 na amostragem de 2010, a atividade da  $\beta$ -glicosidase não diferiu nas três áreas, enquanto na amostragem de 2011 a atividade dessa enzima aumentou na seguinte ordem: área de referência < área em recuperação < área de pastagem.

Embora em 2010, nas duas fazendas de Paracatu, os níveis de atividade da fosfatase ácida não tenham apresentado diferenças significativas, nas três áreas avaliadas houve uma tendência de aumento sendo a atividade na pastagem com moderada degradação < área em recuperação < área de referência. Em 2011 a atividade dessa enzima não foi determinada nessas áreas.

Nas fazendas 1 e 2, as áreas em recuperação apresentaram níveis médios de atividade da arilsulfatase (amostragens de 2010 e 2011), 2,7 e 2,5 vezes superiores, respectivamente, aos da pastagem sob moderada degradação. Nas amostragens realizadas na Fazenda 2 em 2010 e 2011 os níveis de atividade da arilsulfatase nas

áreas em recuperação superaram inclusive os níveis obtidos nas áreas de referência, apesar de ambas apresentarem conteúdos semelhantes de MOS. Na Fazenda 1 (Paracatu) as áreas em recuperação e de referência não diferiram quanto à atividade dessa enzima na amostragem de 2010 mas, na amostragem de 2011, a atividade na área de referência superou a da área de pastagem sob moderada degradação.

### 3.2 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO E ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS - INMET, Brasília

A inclusão da propriedade pertencente ao INMET localizada no Setor Sudoeste de Brasília teve como objetivo avaliar a hipótese de que com o aumento do tempo de implantação do modelo de recuperação também ocorre uma evolução na qualidade do solo aproximando-a das condições originais. O maior tempo de estabelecimento dos plantios de recuperação nessa propriedade (7 anos), possibilitou que as diferenças observadas entre as áreas em recuperação e degradadas fossem mais acentuadas, influenciando inclusive os teores de MOS. Embora a MOS da área em recuperação ainda não tenha atingido os valores da área de cerrado nativo, houve um aumento de 43% em relação à área degradada (Tabela 3).

Nas áreas em recuperação, o CBM e a atividade da arilsulfatase foram, respectivamente, 1,8 e 2,6 vezes superiores aos da área degradada (Tabela 3). Em contrapartida os mesmos indicadores foram 1,6 e 1,7 vezes inferiores aos da área usada como referência.

Com relação à respiração basal as três áreas (degradada, em recuperação e de referência) não diferiram entre si. A área degradada apresentou valores de  $q\text{CO}_2$  3,5 vezes superiores aos da área de referência sob vegetação de Cerrado, indicando uma situação de maior desequilíbrio (Tabela 3). Num ambiente em equilíbrio a biomassa é mais eficiente e perde menos C na forma de  $\text{CO}_2$  durante a respiração e imobiliza mais C nas células microbianas (ANDERSON; DOMSCH, 1990).

Os níveis de atividade da  $\beta$ -glicosidase e da fosfatase ácida nas áreas em recuperação e de referência foram semelhantes e em média 1,6 e 1,8 vezes, superiores aos da área degradada, respectivamente (Tabela 3).

Além desses atributos microbiológicos nessa propriedade também foram avaliados o perfil e a diversidade metabólica das comunidades bacterianas utilizando microplacas Biolog-Ecolog e a estrutura genética das comunidades bacterianas utilizando o DGGE (Figuras 9 e 10).

Os resultados referentes aos padrões de utilização dos diferentes grupos de substratos de carbono, a partir de microplacas Biolog-Ecolog, são apresentados na Figura 9. O consumo das fontes de carbono, avaliado pelo metabolismo heterotrófico médio, não variou significativamente entre a área degradada e em recuperação, entretanto, a área de referência sob vegetação nativa apresentou um perfil metabólico distinto, conforme também verificado por outros autores em diferentes biomas (CHAER et al. 2009; MALUCHE-BARETTA, 2007; SOUZA et al., 2012). Constatou-se que os substratos consumidos com maior intensidade nas áreas de Cerrado nativo foram o i-eritritol (carboidrato) e  $\alpha$ -ciclodextrina (polímero). Nas demais áreas esses substratos praticamente não foram consumidos pela comunidade microbiana.

Apesar das diferenças observadas no padrão de utilização dos diferentes grupos de substratos, verificou-se que a riqueza de substratos de carbono (S) e a eqüitabilidade de substratos (E), que mede a uniformidade de utilização dos substratos consumidos pelas comunidades microbianas (MAGURRAN, 1988), foi semelhante entre as áreas estudadas (Tabela 4), não sendo observadas diferenças significativas. O índice de diversidade de Shannon (H), que reflete a riqueza de substratos e a intensidade com que esses substratos são utilizados pela microbiota (ZAK et al., 1994), também não diferiu entre as três áreas. O perfil metabólico deve ser considerado indicador relativo de alterações nas comunidades microbianas dos solos (GOMEZ; FERRERAS; TORESANI, 2006), pois as diferentes fontes de C representadas entre os 31 substratos das microplacas Biolog-Ecolog não abrangem plenamente a diversidade de compostos nutricionais dos ambientes naturais (KONOPKA; OLIVER; TURCO, 1998).

A partir dos perfis eletroforéticos dos fragmentos do gene do RNA 16S obtidos em géis com gradientes de desnaturação (DGGE) nas áreas do INMET foi construído um dendograma que indica as diferentes estruturas de comunidades de

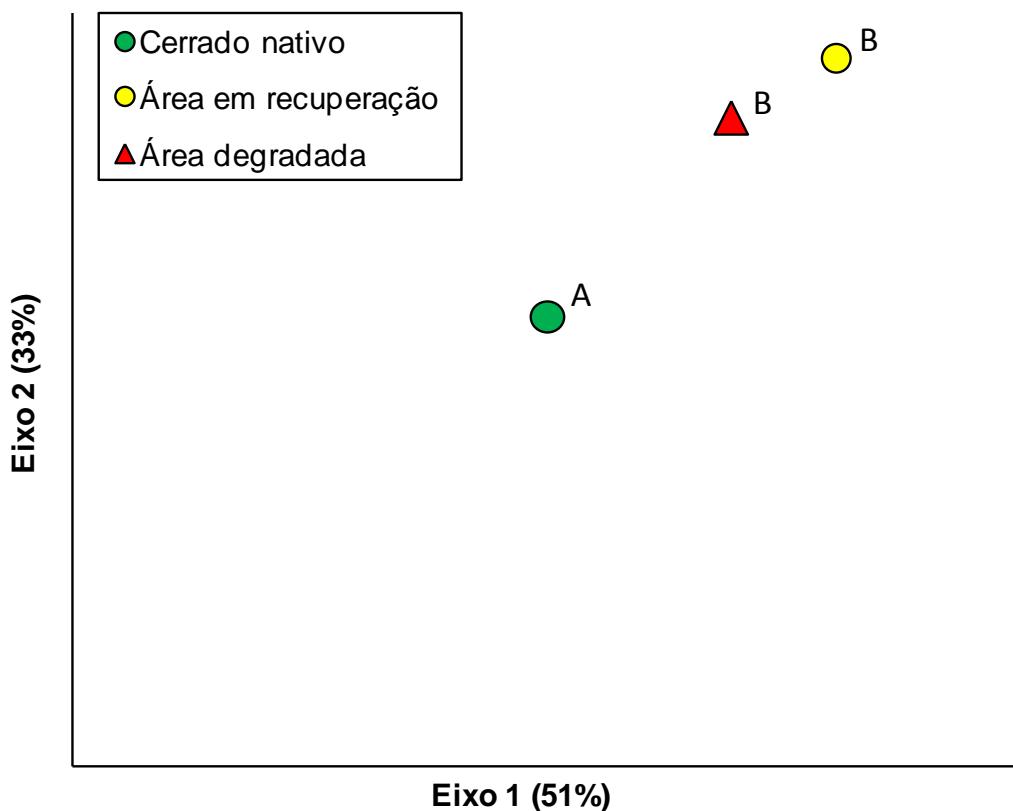
bactérias presentes nas áreas do estudo (Figura 10). A análise do gel de DGGE mostra que o padrão de bandas obtido para o Cerrado nativo formou um grupo distinto das áreas degradadas e em recuperação. A similaridade da área sob vegetação nativa com as outras foi de 50%, no entanto não houve um agrupamento distinto entre as áreas degradadas e em recuperação.

**Tabela 3-** Propriedades microbiológicas e matéria orgânica na profundidade de 0 -10 cm de solos sob degradação, em processo de recuperação e sob Cerrado nativo, em Paracatu-MG (anos de 2010 e 2011) e Brasília (ano de 2011).

Áreas	MOS	CBM	Respiração	qCO <sub>2</sub>	β-glicosidase	Fosfatase ácida	Arilsulfatase
	g kg <sup>-1</sup>	mg.kg <sup>-1</sup>	mg.C-CO <sub>2</sub> . kg <sup>-1</sup>		----- μg p-nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>		
<b>Paracatu 2010</b>							
<b>FAZ 1</b>							
Pastagem	38b	682b	140b	0,21ab	64b	670a	81b
Recuperação	73a	910a	216a	0,24a	83a	867a	219a
Cerrado	72a	953a	163b	0,17b	64b	1030a	261a
<b>FAZ 2</b>							
Pastagem	35a	576b	127b	0,22ab	64a	691a	45b
Recuperação	37a	841a	152ab	0,18b	63a	924a	100a
Cerrado	42a	619b	165a	0,27a	46a	897a	72b
<b>Paracatu 2011</b>							
<b>FAZ 1</b>							
Pastagem	35c	497b	139b	0,30ab	68b	nd	129c
Recuperação	72a	650b	250a	0,39a	97a	nd	350b
Cerrado	67b	877a	120b	0,15b	93a	nd	457a
<b>FAZ 2</b>							
Degrada	39a	480a	159a	0,34a	113a	nd	116,8b
Recuperação	38a	569a	99b	0,18b	85b	nd	226,3a
Cerrado	37a	486a	98b	0,21b	50c	nd	164,4b
<b>Brasília 2011</b>							
<b>INMET</b>							
Degrada	14c	153 c	115 a	0,7 a	36b	913 b	23 c
Recuperação	20b	276 b	96a	0,3 b	55ab	1493a	60b
Cerrado	27a	448 a	116 a	0,2 b	61 a	1758a	103 a

**FAZ.1** – fazenda 1; **FAZ. 2** – fazenda 2; **INMET** – Instituto Nacional de Meteorologia. Matéria orgânica do solo (MOS), carbono da biomassa microbiana (CBM). Médias seguidas de mesma letra minúsculas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ). Não determinado (nd).

**Figura 9-** Estrutura funcional das comunidades bacterianas de três áreas (Cerrado nativo, recuperação e degradada), determinada pelo perfil metabólico em microplacas Biolog Ecolog (Análise de NMS - “Non-metric Multidimensional Scalling”). Os valores entre parênteses após os títulos dos eixos referem-se à percentagem da variabilidade original dos dados representada em cada eixo.

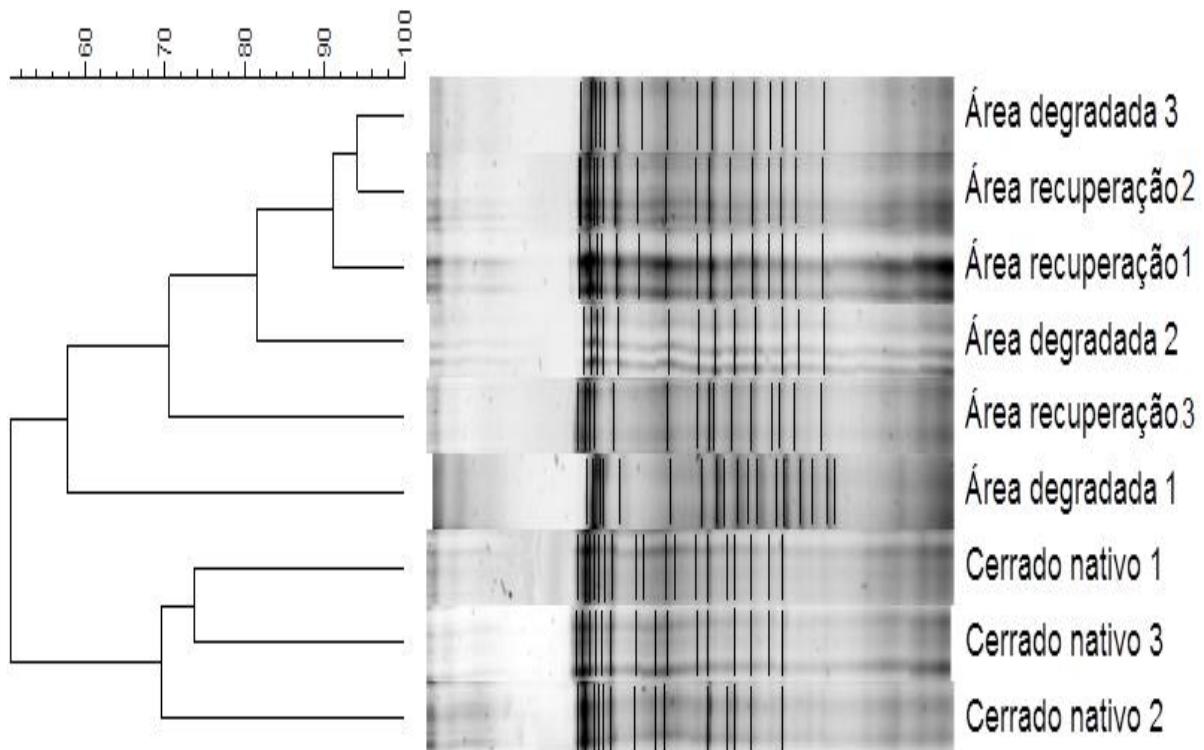


**Tabela 4:** Índice de diversidade de Shannon (H), riqueza de substratos (S) e equitabilidade (E) na profundidade 0-10 cm, com base na utilização de fontes de C presentes nas microplacas Biolog - Ecolog pela comunidade bacteriana do solo, em Brasília-DF.

Áreas	H	S	E
<b>Degrada</b>	2,88*	19,67*	0,97*
<b>Recuperação</b>	2,88*	18,67*	0,98*
<b>Cerrado</b>	2,98*	21,00*	0,98*

\* Não significativo pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

**Figura 10** - Dendrograma de similaridade da estrutura das comunidades bacterianas de três áreas (Cerrado nativo, recuperação e degradada), gerado pelo algoritmo UPGMA e matriz de similaridade de Jaccard a partir dos dados obtidos da análise de DGGE.



### 3.3 QUALIDADE BIOLOGICA DO SOLO

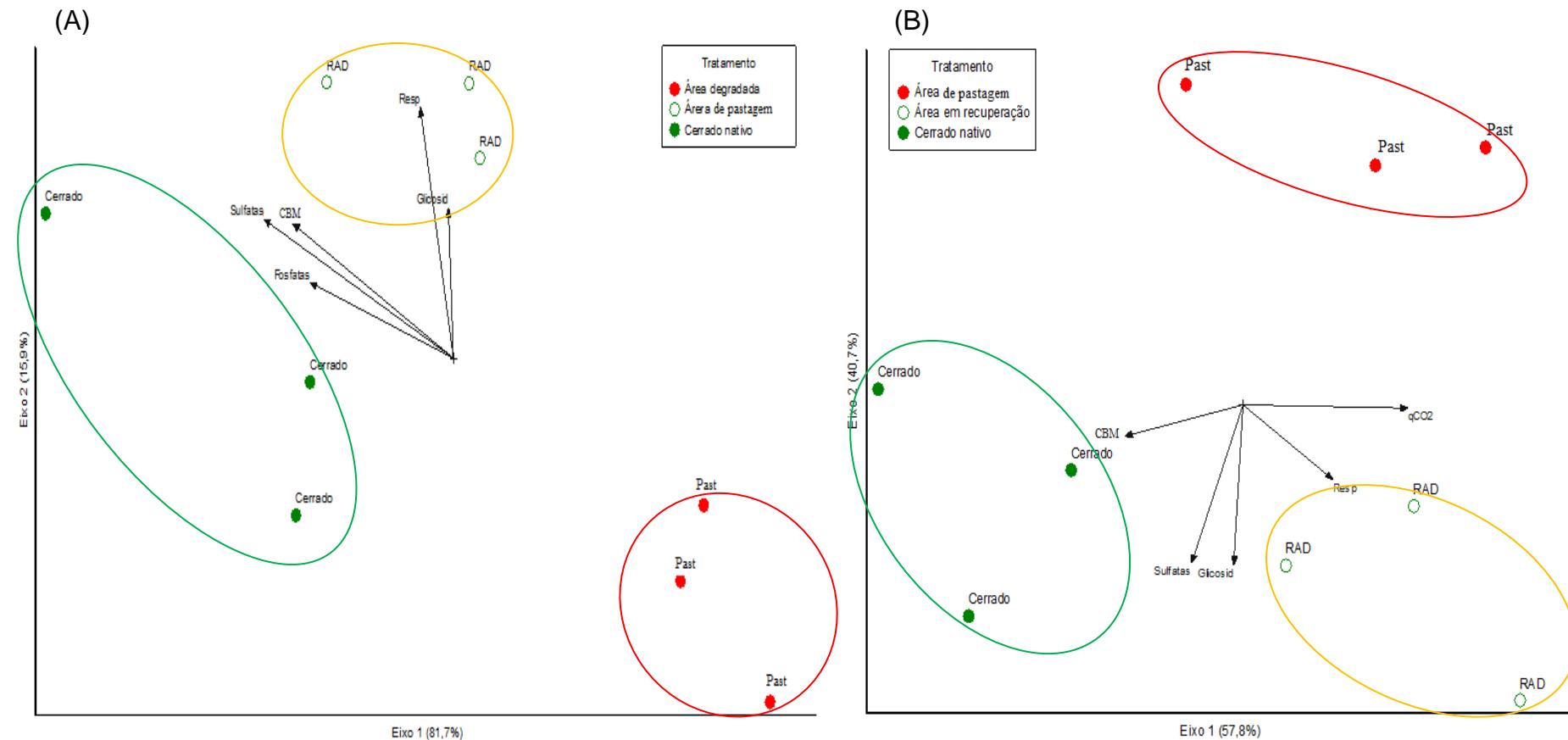
O resultado das análises de componentes principais (ACP) nas três localidades avaliadas no estudo (Fazenda 1, Fazenda 2 e INMET) nos anos de 2010 e 2011 são apresentados nas Figuras 11A e 11B, 12A e 12B e 13. Apesar de algumas propriedades biológicas do solo isoladamente não detectarem diferenças significativas entre as áreas no presente estudo, ao se analisar a qualidade biológica do solo (QBS) - aqui definida como sendo o resultado da ordenação multivariada dos seis atributos microbiológicos- nota-se o efeito decorrente das alterações da cobertura vegetal. Apenas os eixos 1 e 2 foram interpretados, pois, o eixo 3, ou não foi significativo ou explicava pouco da variação. Nas três localidades avaliadas no estudo: Fazenda 1 e Fazenda 2 (nos anos de 2010 e 2011) e INMET (ano de 2011), a análise conjunta dos atributos do solo foi capaz de discriminar os tipos de coberturas vegetais investigados (Figuras 11A e 11B, 12A e 12B e 13). Em cada

local, a qualidade biológica do solo das áreas com diferentes históricos de manejo foi avaliada com base na distância gráfica em relação ao referencial de qualidade, que no presente estudo foi a área de cerrado sob vegetação nativa.

Na Fazenda 1, nas duas amostragens (2010 e 2011) verificou-se a existência de um gradiente em termos de QBS, sendo que as áreas sob recuperação se aproximaram do cerrado, e as áreas degradadas ficaram mais distantes. Na amostragem de 2010, o eixo 1 da ordenação explicou 81,7% da variação dos resultados e o eixo 2 15,9% (Figura 11A). O CBM e as atividades da fosfatase ácida e da arilsulfatase foram as variáveis que mais contribuíram para a separação da área de Cerrado nativo e a  $\beta$ -glicosidase e a respiração basal as variáveis que mais influenciaram a separação da área em recuperação. Nessa mesma propriedade no ano de 2011 o eixo 1 da ordenação explicou 57,8% da variação dos resultados e o eixo 2 explicou 40,7%. (Figura 11B). Novamente o CBM foi um dos fatores que mais influenciaram para a separação da área de cerrado, e a respiração e o quociente metabólico os fatores que mais influenciaram para a separação da área em recuperação.

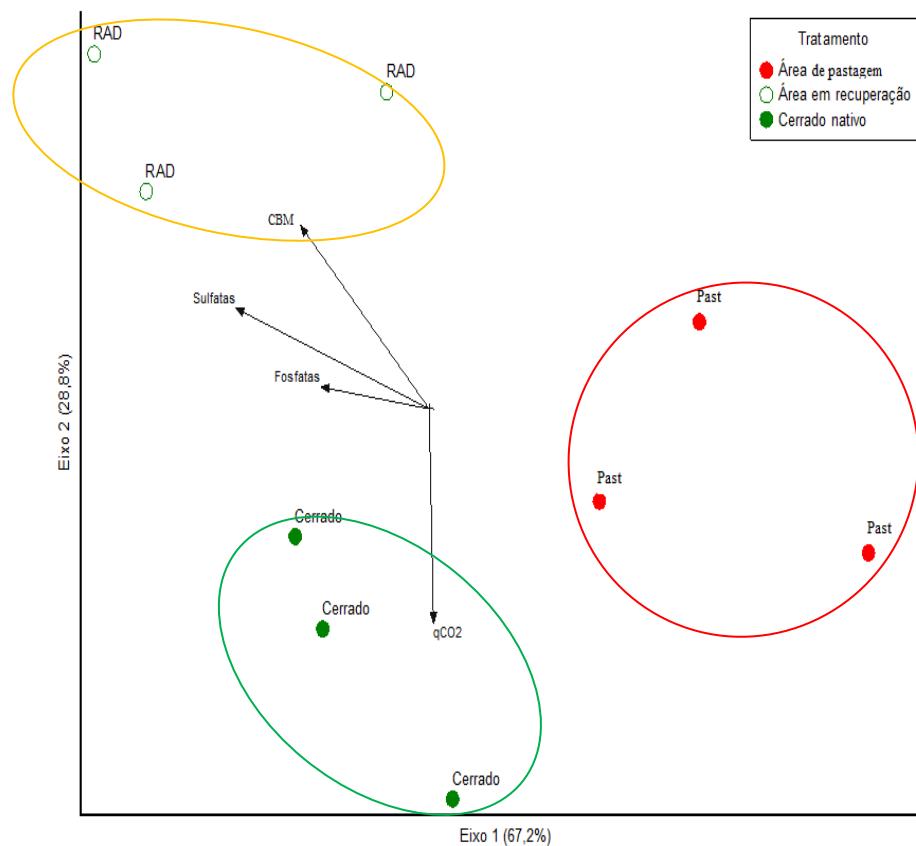
Nas duas amostragens realizadas na Fazenda 2, apesar dos agrupamentos distintos formados pelas áreas de pastagem, em recuperação e cerrado nativo não foi possível distinguir a existência de um gradiente de QBS (Figuras 12A e 12B). Por outro lado, na representação gráfica das áreas avaliadas no INMET (Figura 13) verifica-se nitidamente a separação das três áreas ao longo do eixo 1 da ordenação, o qual agrupou 83,7% da variabilidade total dos dados. As áreas de cerrado não perturbadas agruparam-se à esquerda do gráfico e as áreas em recuperação e degradadas formaram um gradiente decrescente em termos de QBS, sendo as áreas degradadas (com maior nível de distúrbio) as mais afastadas das áreas de cerrado. A sobreposição dos vetores de correlação de cada indicador com os eixos de ordenação revelaram que a separação dos tratamentos foi relacionada principalmente a mudanças no CBM, e na atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase, e fosfatase ácida. O  $qCO_2$ , foi o único parâmetro fortemente influenciado pela área em degradação, o que já era esperado uma vez que esse indicador aumenta com a intensidade do distúrbio.

**Figura 11-** Análise componente principal (ACP) representando a distribuição das áreas conforme a similaridade dos bioindicadores do solo na Fazenda 1, no município de Paracatu-MG. As setas representam a capacidade de cada indicador em separar os tratamentos. Atividade enzimática:  $\beta$ -Glicosidase (Glicosid), sulfatase (Sulfatas) e fosfatase (Fosfatases), carbono da biomassa microbiana (CBM). (A) 2010. (B) 2011

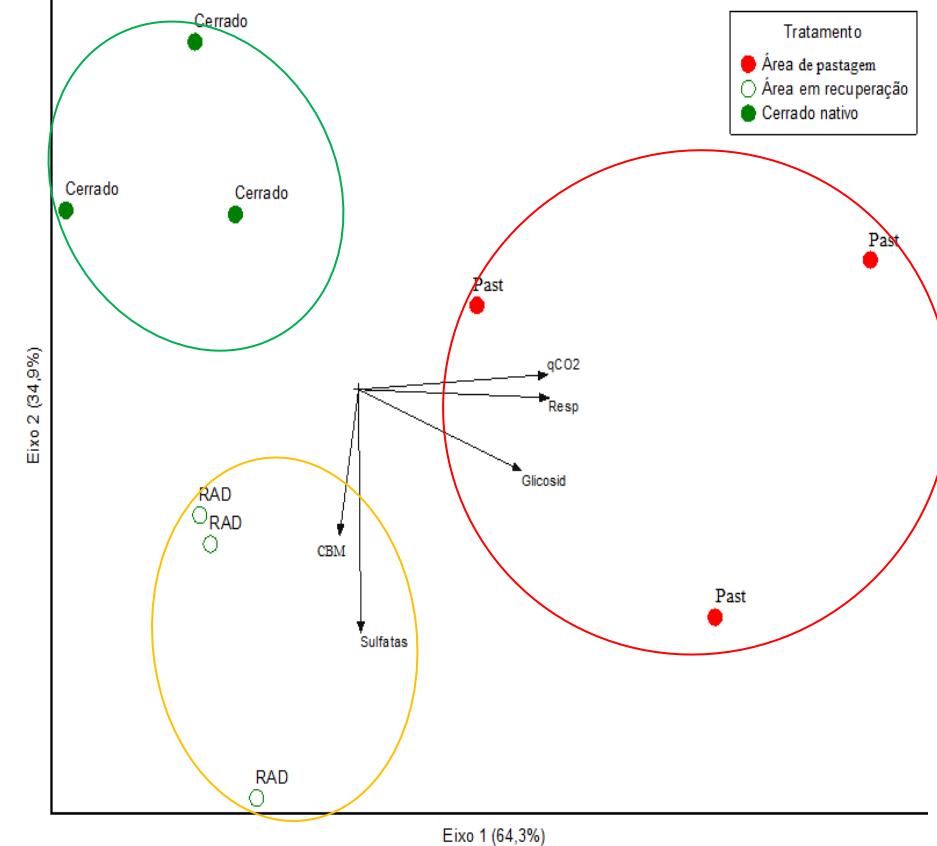


**Figura 12-** Análise componente principal (ACP) representando a distribuição das áreas conforme a similaridade dos bioindicadores do solo na Fazenda 2, no município de Paracatu-MG. As setas representam a capacidade de cada indicador em separar os tratamentos. Atividade enzimática:  $\beta$ -Glicosidase (Glicosid), sulfatase (Sulfatas) e fosfatase (Fosfatases), carbono da biomassa microbiana (CBM). (A) 2010. (B) 2011.

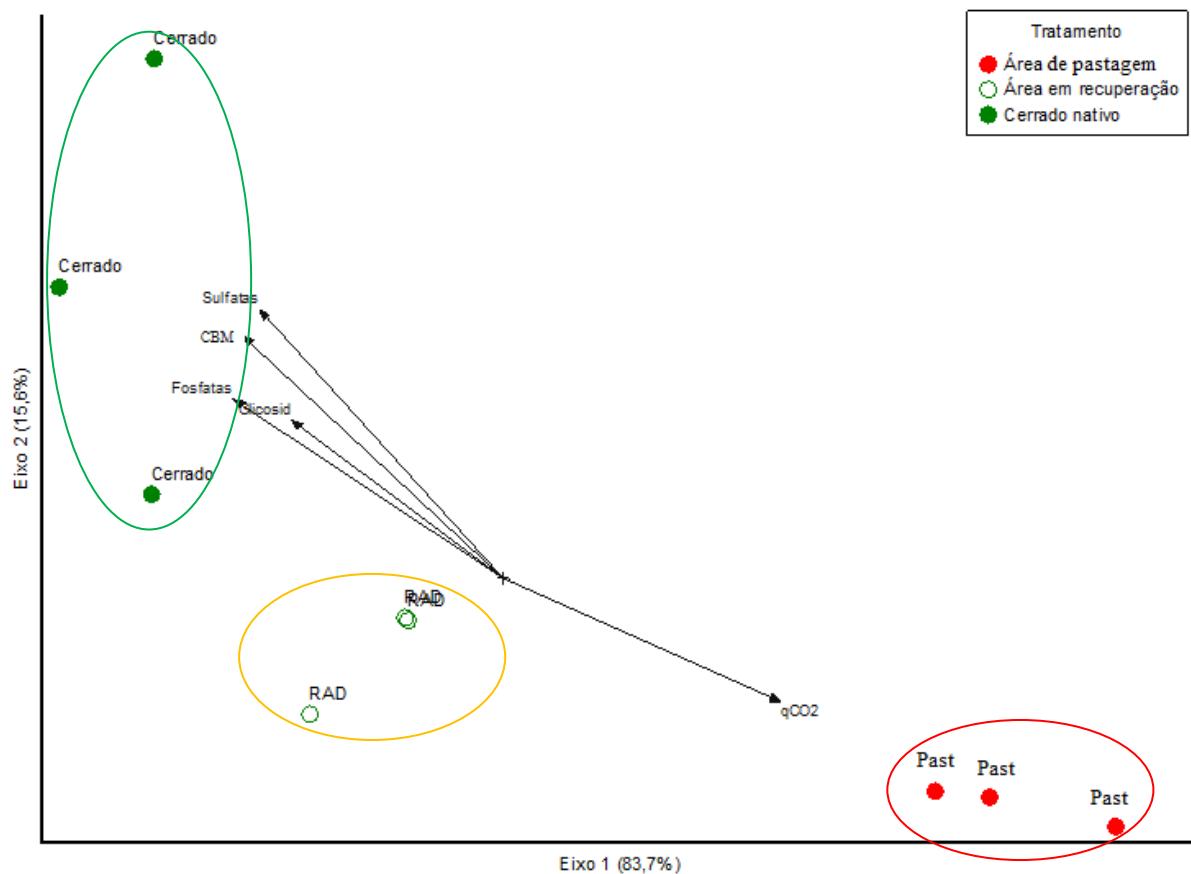
(A)



(B)



**Figura 13-** Análise componente principal (ACP) representando a distribuição das áreas conforme a similaridade dos bioindicadores do solo no INMET, em Brasília-MG. As setas representam a capacidade de cada indicador em separar os tratamentos. Atividade enzimática:  $\beta$ -Glicosidase (Glicosid), sulfatase (Sulfatas) e fosfatase (Fosfatase), carbono da biomassa microbiana (CBM).



#### 4 DISCUSSÃO

No presente estudo, conduzido no Cerrado, os resultados obtidos evidenciaram que entre os atributos microbiológicos utilizados para o monitoramento das áreas sob plantio de recuperação, a arilsulfatase foi o atributo que permitiu a diferenciação das áreas em recuperação das áreas em degradação em todos os locais avaliados. Embora o aumento na atividade dessa enzima tenha sido correlacionado com aumentos nos teores de MOS na Fazenda 1 e também na área do INMET, na Fazenda 2 os aumentos de atividade ocorreram independentemente de aumentos na MOS. Essa enzima atua nos processos através dos quais o enxofre orgânico do solo é mineralizado e disponibilizado para as plantas (TABATABAI; BREMMER, 1970; TABATABAI, 1994) e conforme relatado por Mendes et al. (2012) apresenta elevados níveis de atividade por unidade de biomassa microbiana em ambientes de Mata de Galeria e Cerradão.

O melhor desempenho da arilsulfatase nas áreas sob plantios de recuperação, mostra que algumas enzimas possuem mais sensibilidade para diferenciar as mudanças que ocorrem no manejo do solo, evidenciando a importância de estudos para selecionar os atributos microbiológicos mais apropriados para cada situação, sempre se levando em consideração as diferentes condições edafoclimáticas e a diversidade de ecossistemas, agroecossistemas e até mesmo sistemas de manejo (AJWA; DELL; RICE 1999; BANDICK; DICK, 1999; GREEN et al. 2007; STOTT et al. 2009; WICK; TIESSEN; MENEZES, 1998). Vários estudos conduzidos em ambientes agrícolas do Cerrado têm evidenciado o potencial da  $\beta$ -glicosidase como um dos indicadores mais promissores em avaliações de qualidade do solo, com boas chances de utilização em laboratórios comerciais de análise de solo por estar relacionada à ciclagem de carbono orgânico, não ser influenciada por nenhum tipo de fertilizante inorgânico, ser altamente correlacionada com a matéria orgânica do solo e ser de simples e relativamente barata determinação (SILVA et al., 2009, LOPES, 2012). Como essa enzima atua nas etapas finais do processo de decomposição da celulose, sua atividade tende a ser baixa em áreas de cerrado sob vegetação nativa, quando comparada a áreas sob cultivos agrícolas (MENDES et al 2003, PEIXOTO et al., 2010), o que pode explicar

o seu baixo desempenho para diferenciar as áreas em ambientes naturais avaliadas no presente estudo.

Em relação ao cerrado nativo, a área de pastagem sob moderada degradação na Fazenda 1 e área degradada no INMET apresentaram os menores valores de CBM, de atividade da enzima arilsulfatase e de MOS evidenciando o impacto da retirada da vegetação nativa. Na fazenda 2 esses efeitos não foram tão acentuados o que pode ser relacionado ao melhor estado da pastagem nessa propriedade. Na área do INMET também foram observadas diferenças entre a diversidade metabólica e genética das áreas sob vegetação nativa e degradada. Essas modificações refletem os efeitos das perdas de MOS que ocorreram entre essas áreas e também as mudanças na qualidade e quantidade da serapilheira, em função da redução da diversidade das espécies vegetais presentes nas áreas em recuperação e degradadas em relação às áreas nativas.

Mudanças na cobertura vegetal afetam diretamente as propriedades microbiológicas do ambiente edáfico, pois as comunidades microbianas dependem desta cobertura para a formação da serapilheira, importante fonte de energia e nutrientes para as mesmas (PEREZ; RAMOS; MCMANUS, 2004; ARAÚJO et. 2010). Desse modo, os maiores valores de alguns atributos microbiológicos e bioquímicos na área sob vegetação nativa, estão diretamente associados ao aporte maior, contínuo e variado de substratos orgânicos provenientes da maior diversidade de espécies vegetais, com diferentes graus de suscetibilidade à decomposição (D'ANDREA et al. 2002, MATSUOKA; MENDES; LOUREIRO, 2003, MENDES et al. 2003; GAMA-RODRIGUES; GAMA-RODRIGUES; FRANCO., 2008; PEIXOTO et al, 2010). Outros fatores que tornam as condições mais favoráveis para a biomassa microbiana em solos sob vegetação nativa são a menor variação e os níveis mais adequados de temperatura e umidade no solo promovido pelo acúmulo de serapilheira (MATSUOKA; MENDES; LOUREIRO, 2003). A existência de perfis metabólicos e genotípicos distintos em áreas sob vegetação nativa em comparação a áreas antropizadas, também tem sido reportada na literatura (MALUCHE-BARETTA, 2007; CHAER et al. 2009; SOUZA et al., 2012) evidenciando que as mudanças na qualidade e quantidade do material orgânico retornado ao solo, em função de alterações na cobertura vegetal, também refletem na composição das comunidades microbianas. Quirino et al.(2009) avaliaram a diversidade bacteriana em solos de cerrado *Sensu stricto* e convertido em pastagens e observaram que a

riqueza de espécies esperada no Cerrado Senso stricto foi cerca de 10 vezes maior que nas áreas de pastagens, com predominância do filo Actinobacteria nas pastagens.

O retorno de uma área degradada ao estágio original de equilíbrio do solo, raramente acontece em um curto espaço de tempo. Em vários estudos sobre os efeitos da recuperação de áreas degradadas pela mineração em propriedades do solo, na Europa, Austrália e no Brasil, estima-se que esse processo pode levar de 10 a 50 anos (CARNEIRO et al., 2008a; COSTA; LUIZÃO; LUIZÃO, 1998; INSAM; DOMSCH, 1988; SCHWENKE et al. 2000). Na área do INMET, observou-se que embora as áreas em recuperação e degradada tenham diferido quanto aos teores de MOS, CBM e atividade enzimática ( $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida), os perfis da estrutura metabólica e genética da comunidade microbiana nessas duas áreas foram semelhantes, embora distintos da área sob vegetação nativa. Ausência de relações diretas entre a estrutura das comunidades microbianas do solo e a atividade enzimática também foram reportadas por Stark, Condron e O'Callaghan (2008)

Esses resultados sugerem que, nesse caso específico, 7 anos após a implantação do processo de recuperação, ou o restabelecimento gradativo de alguns atributos biológicos ainda não tenha sido suficiente para alterar os perfis da estrutura metabólica e genética da comunidade microbiana nessas duas áreas ou que as alterações que ocorreram não foram passíveis de detecção pelos dois métodos utilizados (Biolog-Ecolog para os perfis da estrutura metabólica e DGGE para os perfis de estrutura genética). Nesse sentido deve-se destacar que os padrões de utilização de substratos de C em placas Biolog-Ecolog, envolvem populações cultiváveis (SMALLA et al., 1998), e que por essa razão reflete parcialmente a diversidade real das comunidades microbianas do solo, pois não inclui as bactérias que não podem ser cultivadas ou que apresentam taxas de crescimento mais lento (oligotróficos). Além disso, as diferentes fontes de C representadas entre os 31 substratos das microplacas Biolog-Ecolog não abrangem plenamente a diversidade de compostos nutricionais dos ambientes naturais (GOMEZ; FERRERAS; TORESANI 2006; KONOPKA; OLIVER; TURCO, 1998). Há de se considerar também as limitações da técnica de DGGE, que segundo Chen et al. (2007), mesmo que uma banda apareça em um perfil de DGGE como uma única banda, ela pode conter pequenas quantidades de DNA diferente, além disso, existe o viés da própria

metodologia do DGGE (BRESOLIN et al., 2010), que acumula, ainda, as dificuldades da extração de DNA e a amplificação por PCR, que também podem contribuir para erros maiores (HERMANSSON; LINDGREN, 2001). Apesar de não ser realista supor que valores absolutos do número de espécies dentro de uma comunidade possam ser obtidos por meio de perfis de DGGE, essa pode ser uma abordagem adequada em análises comparativas dos membros dominantes das comunidades (PEIXOTO et al., 2006). Provavelmente, as reais comparações entre as populações do solo só possam ser alcançadas por meio de sequenciamento massivo de todos os componentes (PEIXOTO et al., 2006).

A representação gráfica da QBS das fazendas de Paracatu mostrou que, com exceção da Fazenda 2, as áreas sob recuperação ocuparam uma posição intermediária entre as áreas usadas como referência e as áreas de pastagem com moderada degradação sugerindo uma rápida mudança qualitativa no solo, logo depois da implantação do modelo de recuperação. Considerando que o desenvolvimento inicial das espécies nativas de cerrado usadas nessas áreas é lento e que as mesmas apresentavam porte pequeno, boa parte dessa mudança qualitativa pode ser atribuída à predominância da gramínea braquiária nessas áreas, que ocorreu devido ao isolamento físico, impedindo o acesso dos animais. O denso sistema radicular, a elevada produção de serapilheira e as entradas contínuas de carbono via rizodeposição têm sido relatadas na literatura como os principais fatores que favorecem o aumento da biomassa e atividade microbiana nas áreas de pastagens com gramíneas (LAVAHUN; JOERGENSEN; MEYER, 1996; OLIVEIRA et al, 2003; ROBERTSON; MYERS; SAFFIGNA, 1993).

Nas áreas do INMET também foi observado em termos de QBS um gradiente decrescente sendo o cerrado > área em recuperação > área degradada, evidenciando que a recuperação da vegetação contribui diretamente para a recuperação da qualidade biológica do solo. Nessa localidade, a elevada sobrevivência e o bom desenvolvimento do plantio misto das 19 espécies florestais e savânicas, bem como o maior tempo de implantação do modelo de recuperação possibilitou que todos os atributos microbiológicos avaliados fossem superiores na área em recuperação do que na área degradada. Além do aporte de resíduos vegetais e da atividade rizosférica, resultando em aumentos nos teores de MOS, o modelo demonstrativo de recuperação implantado nessa área, também proporcionou à comunidade microbiana outros benefícios indiretos tais como acúmulo de

serapilheira e maior cobertura vegetal na área, com consequente diminuição da irradiação solar direta e da temperatura do solo.

Efeitos de curto prazo relacionados à recuperação de áreas degradadas variam principalmente em função do método de recuperação utilizado, das condições iniciais de degradação da área a ser recuperada, do tipo de solo e dos parâmetros utilizados para monitorar as áreas. Nunes et al (2012) verificaram aumentos no carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, hidrólise da fluoresceina diacetato e na atividade da enzima desidrogenase em áreas há 4 anos sob plantio de recuperação com adubos verdes no nordeste brasileiro. Da mesma forma, Baldrian et al. (2008) encontraram uma tendência geral de aumento da biomassa microbiana e da atividade enzimática ( $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e alcalina, arilsulfatase) no solo durante as fases iniciais de recuperação espontânea, após a mineração (carvão). Por outro lado, Santos et al. (2011) utilizando avaliações de CBM, respiração basal e qCO<sub>2</sub> não observaram diferenças na qualidade do solo em áreas de restauração inicial (< 4 anos) e avançada (> 4 anos) de eucalipto em latossolos do vale do Jequitinhonha, MG.

Conforme verificado em estudos anteriores (CARNEIRO et al., 2008a; GAI; BOERNER, 2007; GRAHAM; HAYNES, 2004; NOGUEIRA Jr., 2000; SILVA et al., 2004; TRINDADE; GRAZZIOTTI; TÓTOLA, 2000), a melhoria na qualidade biológica dos solos após a implantação de modelos de recuperação de áreas degradadas demonstra os benefícios da revegetação sobre as propriedades biológicas do solo e também que os atributos microbiológicos do solo, além de proporcionar respostas mais rápidas a mudanças no ambiente, apresentam potencial para uso na avaliação da qualidade do solo, em ambientes degradados ou em algum estágio de recuperação.

## 5 CONCLUSÕES

- A degradação de áreas pela retirada da vegetação nativa ou com pastagens moderadamente degradadas promove alterações nos atributos microbiológicos do solo em comparação a áreas com vegetação nativa de Cerrado.
- Os benefícios da recuperação (com plantio de mudas de espécies nativas) sobre as propriedades microbiológicas do solo são diferenciados em função do tipo de degradação e o tempo de reabilitação.
- Na área do INMET, a perturbação no ambiente, provocada pela retirada da vegetação nativa, alterou o perfil metabólico e a estrutura genética das comunidades bacterianas do solo.
- Avaliadas conjuntamente as variáveis microbiológicas expressaram uma tendência a melhoria na qualidade biológica dos solos, conforme o seguinte gradiente: áreas degradadas < áreas em recuperação < áreas de referência.
- Entre os atributos microbiológicos utilizados para o monitoramento das áreas sob plantio de recuperação, a arilsulfatase se constituiu na melhor opção, pois permitiu a diferenciação das áreas em recuperação das áreas em degradação em todos os locais avaliados.

**CAPÍTULO 2**

**QUALIDADE BIOLÓGICA DE SOLOS DE CERRADO SOB  
DIFERENTES MANEJOS DE CANA-DE-AÇÚCAR**

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento nos preços do petróleo, a emissão de grandes quantidades de gases poluidores e causadores do efeito estufa pelos combustíveis fósseis e o aumento da demanda da sociedade por fontes limpas e renováveis de energia, têm impulsionado a expansão das áreas sob o cultivo de cana para produção de bioetanol. A cana-de-açúcar se destaca como uma das melhores opções como fonte de energia renovável, devido ao fato de ser uma cultura com via fotossintética C4, de alta eficiência na fixação do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) do ar, o que possibilita que a produção do álcool retorne menos CO<sub>2</sub> à atmosfera, pois as emissões advindas de sua queima são equivalentes a absorção de CO<sub>2</sub> pela fotossíntese (BODDEY; DÖBEREINER, 1995). Assim, com esse grande potencial a produção de biocombustíveis triplicou de 2000 a 2007 (VALDES, 2007).

Cultivada no Brasil desde o século XVI, inicialmente em Pernambuco e Bahia, a cana em 1615 atingiu o planalto paulista (MOZAMBANI et al., 2006) . Hoje o Brasil se destaca no cenário mundial como um dos maiores produtores de cana-de-açúcar com uma área colhida na safra 2010/2011 de 8,03 milhões hectares e uma produção de 623 milhões de toneladas (CONAB, 2010), e uma estimativa de 641 milhões de toneladas para safra 2011/2012 (CONAB, 2011).

O Cerrado é foco da expansão atual da cultura da cana-de-açúcar, o que se justifica pela abundância de terras baratas e aptas ao cultivo da cana, principalmente áreas ocupadas anteriormente por pastagens. Assim, a busca por uma maior produção de cana-de-açúcar tem levado a ocupação do Cerrado para fins agroenergéticos e para produção de açúcar (FAEG, 2007). Esse fato desperta preocupação quanto à sustentabilidade dos canaviais do Cerrado, pois essa ocupação pode ser conduzida sem se levar em consideração as características peculiares do bioma (SILVA; RESCK, 1997). Nas décadas de 1970 e 1980 o bioma Cerrado foi palco do aumento da fronteira agrícola do país, e como resultado ocorreu a modernização da agricultura, voltada principalmente para a produção de grãos, em particular de soja e de algodão, entre outros. Porém segundo o Zoneamento Agroecológico da cana-de-açúcar (MANZATTO, 2009) somente os biomas Pantanal e Amazônia, estão excluídos da expansão do cultivo de cana-de-

açúcar. Assim, boa parte do bioma Cerrado, principalmente áreas localizadas no estado de Goiás, são áreas aptas a essa nova expansão agrícola.

Entre os sistemas de cultivo utilizados na produção da cana-de-açúcar destacam-se o sistema de cultivo convencional e o sistema de cultivo orgânico. O cultivo convencional, com fertilizantes químicos e agrotóxicos, pode ser realizado com a queima da palhada ou sem a queima. O sistema de cultivo de cana-de-açúcar com queima é responsável por emissões de gases na atmosfera, no entanto, o balanço entre a emissão de CO<sub>2</sub> durante as queimadas e a retirada de CO<sub>2</sub> do ambiente, pelo processo fotossintético é nulo, uma vez que a cultura reabsorve o equivalente ao CO<sub>2</sub> emitido (SILVA, 1996). Assim, a adoção do manejo da colheita sem a queima prévia do canavial torna positivo o balanço do CO<sub>2</sub>, uma vez que o carbono que seria emitido durante a queimada, pode permanecer no sistema, e ser incorporado ao solo. Aliado a este fato, a possibilidade do uso de máquinas colhedoras tem aumentado a área onde a colheita é feita mecanicamente e sem queima prévia do canavial (CAMPOS, 2003).

Os sistemas de cultivo orgânico de cana, não permitem o uso de pesticidas sintéticos e fertilizantes, e baseiam-se no uso de práticas como a rotação de culturas, o uso de estercos de animais, adubação verde e no controle biológico de pragas e doenças (EHLERS, 1996). Por essa razão, sistemas de agricultura orgânica possuem uma dinâmica completamente diferente de funcionamento do solo, mostrando maior dependência do componente biológico do que os sistemas agrícolas convencionais (SCOW et al. 1994).

Como o estabelecimento de diferentes agroecossistemas influencia a biota do solo e os processos realizados por ela, o uso de indicadores microbiológicos, tais como o carbono da biomassa microbiana, a respiração basal e a atividade enzimática do solo são importantes para avaliar os impactos desses agroecossistemas na qualidade dos solos agrícolas. A capacidade dos indicadores microbiológicos detectarem mudanças que ocorrem no solo, em função dos estabelecimento de diferentes sistemas de manejo, em etapa anterior em comparação a atributos físicos e químicos, tem sido observada em vários estudos (BANDICK; DICK, 1999; BENDING et al., 2004; GEISSELER; HORWATH, 2009; KANDELER; TSCHERKO; SPIEGEL, 1999; MILLER; DICK, 1995; PEIXOTO et al., 2010). Apesar da expansão no cultivo de cana no Brasil e no mundo, os estudos sobre as alterações que diferentes sistemas de manejo dessa cultura, exercem

sobre os atributos microbiológicos dos solos são poucos e tem se concentrado em avaliações de biomassa e respiração microbiana (DOMINY; HAYNES, 2002; GRAHAM; HAYNES, 2005; HOLT; MAYER, 1998; MCGARRY et al., 1996; MENDONZA et al. 2000; SOUZA et al. 2012). Existem poucos estudos sobre a atividade enzimática em solos sob cultivo de cana (GEISSELER; HORWATH, 2009; SANT'ANNA et al 2009) e sobre os impactos do cultivo de cana na biodiversidade microbiana (GRAHAM; HAYNES, 2005b; MORAIS, 2008) nestes solos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar como o cultivo da cana de açúcar em sistemas de manejo orgânico e convencional (com queima e sem queima da palhada) influencia a qualidade biológica de solos de cerrado representada por análises simultâneas de carbono da biomassa microbiana e da atividade de enzimas relacionadas com a C, P e os ciclos de S ( $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, respectivamente), em diferentes profundidades do perfil do solo (0-10,10-20 e 20-40 cm).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO

O estudo foi conduzido nas áreas sob cultivo de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.); a cana é nomeada sem espécie definida porque as variedades comerciais modernas baseiam-se em híbridos interespecíficos entre *Saccharum spontaneum* e *Saccharum officinarum*), da Usina Jalles Machado, situada na Fazenda São Pedro S/N - Zona Rural - Rodovia GO-080 km, 71.5 - Goianésia – GO, localizada a 15°10' S de latitude e 49°15' W de longitude, com 640 m de altitude. O clima da região é caracterizado, segundo Köppen como tropical de savana, quente e úmido, com inverno seco e verão chuvoso (Aw).

O solo é do tipo Latossolo Vermelho, textura argilosa e relevo plano a suave ondulado, fase Cerrado. Os sistemas de uso do solo avaliados foram: i) sistema de cultivo convencional com queima, ii) sistema de cultivo convencional sem queima, iii) sistema de cultivo convertido ao manejo orgânico há 3 anos, iv) sistema de cultivo convertido ao manejo orgânico estabelecido há 11 anos. Um breve histórico e descrição das operações nessas áreas é apresentado na tabela 5. Como referência das condições originais do solo, uma área adjacente sob vegetação nativa também foi incluída no estudo. Este remanescente de Cerrado, chamado Mata dos Macacos, é caracterizado por apresentar vegetação nativa não antropizada, com espécies florestais representativas da formação vegetacional de Floresta Estacional Semi-Decidual, com transição para Savana Florestada (Cerradão). A área de Cerrado representa um sistema em equilíbrio que foi utilizado como referencial para a avaliação das alterações nos atributos biológicos, físicos e químicos do solo devido ao cultivo do solo com a cana-de-açúcar.

As propriedades químicas (pH em água, H+Al, P, K, Mg e Ca) e a granulometria dos solos dessas áreas são apresentadas nas Tabelas 6 e 7.

**Tabela 5-** Histórico e características dos sistemas de uso e manejo instalados em Latossolo, no município de Goianésia – GO.

Sistema de manejo	Histórico		Principais operações de campo nos diferentes sistemas		Produtividade	
	Anos sob cana queimada	Anos sob o manejo atual	Plantio e Colheita	Adubações	Média * (t/ha)	Acumulada** (t/ha)
CCQ	27	27	No plantio ocorre aração com aiveca seguida de grade para nivelamento (variedade IAC-SP-944004). Queima-se a palhada antes da colheita manual. Última reforma (ago/2006). Plantio atual (mar/2007).	Na adubação de plantio utiliza-se Fosfato Monoamônio (300 Kg/ha) distribuídos na linha de cultivo da cana. Na adubação de manutenção um formulado fluido NPK (50,30,120 Kg/ha) sob a soqueira.	79,8	319,1
CSQ	18	5	No plantio ocorre aração com aiveca seguida de grade para nivelamento (variedade SP86-7515). Nesta área parte da colheita é mecanizada e outra parte manual. Última reforma (ago/2004). Plantio atual (fev/2005).	Na adubação de plantio utiliza-se Fosfato Monoamônio (300 Kg/ha) distribuídos na linha de cultivo da cana. Na adubação de manutenção um formulado fluido NPK (50,30,120 Kg/ha) sob a soqueira.	69,8	279,3
CO3	11	3	No plantio ocorre aração com aiveca seguida de grade para nivelamento (variedade SP79-1011). A colheita nesta área é mecanizada. Última reforma (dez/2005). Plantio atual (jul/2006).	Na adubação de plantio até 2008 utilizou-se adubo NPK (04-28-20 + 04% ZN) 500 Kg/ha distribuídos sobre o solo, depois de 2008, 10 t/ha de torta de filtro. Na adubação de manutenção um formulado fluido NPK (50,30,120 Kg/ha) sob a soqueira até 2008, e com vinhaça e torta de filtro após 2008.	80	320
CO11	-	11	No plantio ocorre aração com aiveca seguida de grade para nivelamento (variedade SP80-1816 e RB85-5113) A colheita nesta área é mecanizada. Última reforma (ago/2000). Plantio atual (set/2001).	Na adubação de plantio até 2000 utilizou-se adubo NPK (04-28-20 + 04% ZN) 500 Kg/ha distribuídos sobre o solo, depois de 2000, 10 t/ha de torta de filtro. Na adubação de manutenção um formulado fluido NPK (50,30,120 Kg/ha) sob a soqueira até 2000, e com vinhaça e torta de filtro após 2000.	77,6	310,3

CCQ – cultivo convencional com queima; CSQ – cultivo convencional sem queima; CO3 – cultivo orgânico há 3 anos; CO11 – cultivo orgânico há 11 anos. \* Produtividade média dos últimos quatro cortes. \*\*Produção acumulada de quatro anos (2007, 2008, 2009, 2010).

**Tabela 6-** Propriedades químicas nas profundidades 0 -10, 10-20 e 20-40 cm de um Latossolo de cerrado sob diferentes sistemas de cultivo de cana-de-açúcar e sob vegetação nativa (Cerradão).

Áreas	pH (H <sub>2</sub> O)			H+ Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )			Ca (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )		
	0-10	10-20	20-40	0-10	10-20	20-40	0-10	10-20	20-40
CCQ	6,2	6,0	5,7	3,4	3,0	3,1	2,7	2,7	1,8
CSQ	5,6	5,5	5,4	3,1	3,2	3,1	2,0	1,4	0,8
CO3	6,0	5,7	5,6	3,0	3,1	3,0	3,0	2,6	1,7
CO11	6,2	6,1	5,9	3,2	3,1	2,9	5,0	3,9	2,8
Cerradão	4,6	4,8	4,9	9,7	7,9	5,2	1,4	0,9	0,4
P (mg dm <sup>-3</sup> )			K (mg dm <sup>-3</sup> )			Mg (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )			
	0-10	10-20	20-40	0-10	10-20	20-40	0-10	10-20	20-40
CCQ	7,4	6,8	4,1	48,0	28,7	18	1,8	1,5	1,3
CSQ	3,2	2,5	1,4	52,7	34,7	24,7	1,4	1,0	1,1
CO3	6,2	3,4	1,9	131,3	61,3	34	1,8	0,8	1,1
CO11	7,4	6,4	3,7	506,7	433,3	326,7	1,9	1,7	1,0
Cerradão	1,2	1,0	0,6	99,3	80,7	46,7	1,8	1,3	0,7

CCQ – cultivo convencional com queima; CSQ – cultivo convencional sem queima; CO3 – cultivo orgânico há 3 anos; CO11 – cultivo orgânico há 11 anos. H+Al, extração com solução de acetato de cálcio 1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0 e titulação com NaOH 1 mol L<sup>-1</sup>; Ca, Mg e Al foram extraídos com KCl 1N e determinados por absorção atômica (Ca e Mg) e titulação com NaOH 0,025 M (Al); P e K foram extraídos com Mehlich 1 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0125 M + HCl 0,05 M) e determinados através de espectrofotometria de ionização de chama (K) e usando o método do azul de Mo (P) conforme descrito em EMBRAPA, 1997

**Tabela 7** - Propriedades granulométricas nas profundidades (0 -10, 10-20 e 20-40 cm) de um Latossolo de cerrado sob diferentes sistemas de cultivo de cana-de-açúcar e sob vegetação nativa (Cerradão).

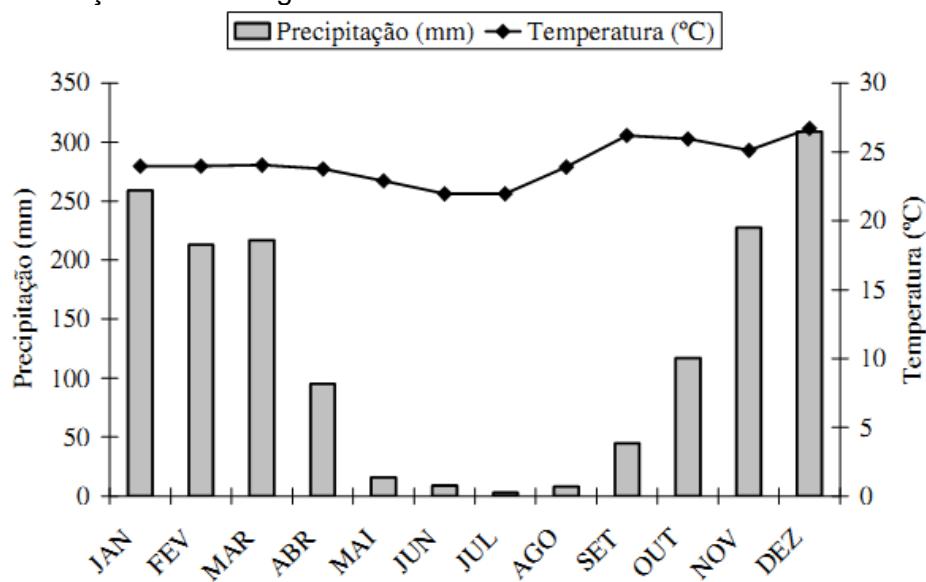
Áreas	Argila			Areia			Silte		
	0-10	10-20	20-40	0-10	10-20	20-40	0-10	10-20	20-40
CCQ	589	589	600	320	307	316	91	104	84
CSQ	325	365	376	607	584	591	68	51	33
CO3	456	468	477	408	420	410	136	112	113
CO11	496	525	548	410	398	380	94	77	72
Cerradão	516	528	556	412	404	381	72	68	63

CCQ – cultivo convencional com queima; CSQ – cultivo convencional sem queima; CO3 – cultivo orgânico há 3 anos; CO11 – cultivo orgânico há 11 anos.

## 2.2 COLETAS E ANÁLISES DE AMOSTRAS DE SOLO

As áreas selecionadas no estudo foram amostradas (estação chuvosa) nos dias 23 e 24 de fevereiro de 2011. Os dados de precipitação média trimestral são apresentados na figura 14.

**Figura 14-** Médias mensais de precipitação (1985-2008) e temperatura (2008-2009). Dados da estação Meteorológica localizada na Usina Jalles Machado em Goianésia-GO.



Fonte: Barbosa, 2010.

Cada área foi dividida em três talhões de aproximadamente 20X30 m. Em cada talhão foram coletadas amostras de solos nas profundidades 0-10, 10-20, e 20-40 cm, em três diferentes pontos localizados nas entrelinhas dos canaviais. Em cada ponto foram retiradas 6 porções de solos equidistantes (25cm), sendo 3 de cada lado das entrelinhas, perpendicularmente a linha de plantio (Figura 15), utilizando-se um trato holandês de 5cm (ou 10cm) de diâmetro. As sub-amostras foram homogeneizadas formando-se uma única amostra por parcela. A área de referência (cerrado nativo) também foi dividida em três parcelas, sendo que em cada uma foram realizados, com o mesmo trato holandês, 18 furos ao acaso para constituir uma amostra composta. No laboratório, o solo foi separado em duas porções, uma para análises químicas e outra para avaliação dos atributos microbiológicos. A porção de solo destinada para as análises microbiológicas foi peneirada em malha de 4 mm e acondicionada em geladeira (7º C) até o momento das análises, iniciadas no máximo em uma semana após a amostragem.

**Figura 15**– Detalhe da área de coleta do solo, mostrando os seis pontos de amostragem nas entrelinhas de cultivo, três de cada lado da linha.



## 2.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

### 2.3.1. Carbono da Biomassa Microbiana (CBM)

Para a estimativa do CBM do solo foi utilizado o método de fumigação-extracção (CFE), proposto por Vance; Brookes; Jenkinson (1987). Para cada amostra utilizaram-se três repetições fumigadas com clorofórmio (F) e três repetições não-fumigadas (NF). Após a coleta no campo, o teor de umidade das amostras contendo 20g de solo foi elevado a 90% da capacidade de campo, quando necessário, e estas foram pré-incubadas, no escuro e à temperatura ambiente, por um período de sete dias. No sexto dia de pré-incubação, metade das amostras foram fumigadas por 48 horas em um dessecador, contendo uma placa de Petri com 25 ml de clorofórmio livre de álcool. Durante este período, as amostras não-fumigadas foram mantidas à temperatura ambiente. O carbono da biomassa microbiana do solo foi extraído pela adição de 50 ml de uma solução de sulfato de potássio ( $K_2SO_4$  - 0,5 mol  $L^{-1}$ ) às amostras de solo, que em seguida foram submetidas à agitação horizontal (150rpm) por 40 minutos. Após a filtragem das amostras com o papel filtro Whatman n.º 2,

adicou-se 2 ml de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$  - 0,4 mol  $L^{-1}$ ) e 15 ml de solução ácida ( $H_2SO_4$  – 99% e  $H_3PO_4$  85%) numa proporção de 1:2 em erlenmeyers de 250 ml. As amostras foram fervidas sob refluxo por 30 minutos, acrescentando-se 20ml de água destilada. O dicromato residual foi determinado pela titulação com uma solução de sulfato ferroso amoniacial [ $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  0,033 mol  $L^{-1}$ ] em ácido sulfúrico concentrado, na presença de um indicador composto por fenantrolina (0,075 mol  $L^{-1}$ ) e sulfato ferroso (0,041 mol  $L^{-1}$ ). A quantidade de CBM foi determinada pela diferença entre o carbono orgânico extraído das amostras de solo fumigadas e não fumigadas, usando um fator de correção ( $K_c$ ) igual a 0,35 conforme (JOERGENSEN, 1995). Os resultados da medição do CBM foram expressos em mg C  $kg^{-1}$  de solo.

### **2.3.2. Respiração basal e quociente metabólico**

Foi utilizado o método da respirometria (evolução de  $CO_2$ ) nas amostras não-fumigadas destinadas a análise de CBM, com a umidade das amostras de solo ajustadas para 90% de sua capacidade de campo. As amostras de 20 g em triplicatas foram colocadas em recipientes hermeticamente fechados, individualmente, onde o C- $CO_2$  produzido foi captado por uma solução de KOH 0,3 mol  $L^{-1}$ . Após um período de incubação de sete dias, o C- $CO_2$  foi quantificado por titulação com HCl 0,1 mol  $L^{-1}$ , acrescentando-se uma solução saturada de  $BaCl_2$  (1 mol  $L^{-1}$ ) para precipitação de  $Na_2CO_3$ . O resultado foi expresso em mg de C- $CO_2 kg^{-1}$ . Foi determinado o quociente metabólico ( $qCO_2$ ) pela relação da respiração microbiana/biomassa microbiana.

### **2.3.3. Atividade enzimática**

As atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase (E.C. 3.2.1.21), fosfatase ácida (E.C. 3.1.3.2) e arilsulfatase (E.C.3.1.6.1) foram determinadas de acordo com Tabatabai

(1994), com exceção de que não houve adição de tolueno. Esse método se baseia na determinação colorimétrica do *p*-nitrofenol liberado por essas enzimas após a adição de substratos específicos a amostras de 1g de solo. Alíquotas de 1 mL de soluções tamponadas e incolores de 0.05-M *p*-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosideo (PNG), 0.05-M *p*-nitrofenil-fosfato (PNP) e 0.05-M *p*-nitrofenil-sulfato (PNS) foram utilizadas como substratos para as enzimas  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, respectivamente. Para cada amostra foram realizadas duas repetições analíticas mais um controle (branco). Após uma hora de incubação a 37°C, o *p*-nitrofenol (coloração amarela) liberado foi extraído por filtração e determinado colorimetricamente a 410 nm. Para a determinação da quantidade de *p*-nitrofenol liberada por cada amostra foi utilizada, como base, uma curva padrão preparada com concentrações conhecidas de *p*-nitrofenol (0, 10, 20, 30, 40 e 50  $\mu$ g de *p*-nitrofenol  $\text{mL}^{-1}$ ). A atividade enzimática do solo é expressa em microgramas de *p*-nitrofenol liberado por hora por grama de solo seco ( $\mu\text{g p-nitrofenol } \text{h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  solo).

### 2.3.4. Matéria Orgânica do Solo (MOS)

Os teores de matéria orgânica foram determinados utilizando-se o método de Walkley & Black (NELSON; SOMMERS, 1982). Utilizou-se 0,5 g das amostras de solo destinadas às análises químicas. Estas foram distribuídas em erlenmeyers, onde adicionou-se 10 ml de uma solução de dicromato de potássio (0,5 mol  $\text{L}^{-1}$ ) e em seguida 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Após 30 minutos adicionou-se 200 ml de água destilada para aumentar a alíquota e facilitar o processo de titulação. Depois de 30 minutos cada amostra foi titulada com sulfato ferroso amoniacial ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) (1 mol  $\text{L}^{-1}$ ), até a viragem para a cor verde e a matéria orgânica facilmente oxidável foi calculada segundo Jackson (1970).

## 2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para as avaliações dos parâmetros microbiológicos e da MOS foi utilizado o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + R_j + S_i + \text{Erro } ij + P_k + (S \cdot P)_{ik} + \text{Erro } ijk,$$

onde:  $\mu$  = média geral dos dados;  $R$  = repetição ( $j = 1,2,3$ );  $S$  = Sistema de manejo ( $i = 1,2,3,4$ );  $P$  = Profundidade ( $k = 1,2,3$ );  $\text{Erro}$  = erro experimental.

A análise de variância foi feita considerando o modelo misto de máxima verossimilhança restrita via PROC MIXED do SAS 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, EUA). E quando esta apontou significância o teste de hipótese de Student ( $t$ ) ( $p < 0,05$ ) foi utilizado para distinção das médias. A área de cerrado nativo não foi incluída nessas análises, pois os valores elevados de alguns atributos nesta área impedia a distinção entre os sistemas de cultivo da cana-de-açúcar. Para esta área foram calculadas as médias e os erros das médias, com base nas três repetições de campo. A ausência de sobreposição entre os valores dos erros da média da área de referência e os resultados dos sistemas de cultivo foi utilizada como uma evidência da diferença entre estas áreas.

Para cada profundidade foram utilizadas técnicas multivariadas para avaliar os efeitos dos diferentes manejos sobre a qualidade do solo (QBS), através da análise simultânea das quatro variáveis microbiológicas (CBM,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase). A dispersão dos escores obtidos para cada um dos sistemas de manejo em um sistema de eixos cartesianos, representado pelos componentes principais, permite visualizar as semelhanças entre os tratamentos com base nas “ $n$ ” variáveis analisadas, maximizando o aproveitamento da variabilidade disponível. Antes da análise, os dados foram normalizados por totais dentro de cada variável para explicar as diferenças nas unidades das variáveis. A matriz de dados normalizados composta pelas quatro variáveis microbiológicas foi chamada matriz FBS. A ordenação foi realizada utilizando o PC-ORD v. programa 4,0 (MCCUNE; MEFFORD, 1999).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO E ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS

Os diferentes sistemas de manejo de cana-de-açúcar promoveram reduções significativas na matéria orgânica do solo (MOS) em relação ao solo sob Cerradão em todas as profundidades avaliadas (Tabela 8). Nos sistemas convencionais (CCQ e CSQ) essas reduções foram em média de 55%, 48% e 41%, para as profundidades 0-10, 10-20 e 20-40 cm respectivamente. Diferenças significativas no conteúdo de MOS entre os diferentes sistemas sob cultivo de cana ocorreram nas profundidades 0 -10 e 10-20 cm. Na profundidade 0-10 cm o sistema CO11 apresentou o maior teor de MOS, enquanto na profundidade 10-20 cm os dois sistemas de cultivo orgânico CO3 e CO11 apresentaram maiores teores de MOS, em relação ao sistema CSQ. A MOS diminuiu com o aumento da profundidade de amostragem do solo na área sob Cerradão, com uma redução de 55% na profundidade de 20 a 40 cm, em relação aos 10 cm iniciais. Essa diminuição em profundidade também ocorreu, nos sistemas cultivados com cana (Tabela 8).

Em todas as profundidades avaliadas, os diferentes sistemas de manejo de cana-de-açúcar promoveram reduções significativas no CBM, em relação ao solo sob Cerradão (Tabela 8). Nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm essas reduções foram em média de 81, 80, 73 e 52%, nas áreas CCQ, CSQ, CO3 e CO11, respectivamente (Tabela 8). Na profundidade 20-40 cm as reduções em relação a área sob Cerradão foram de 55, 86, 59 e 51%, nas áreas CCQ, CSQ, CO3 e CO11, respectivamente.

Na profundidade 0-10 cm, os sistemas de manejo orgânico (CO3 e CO11) apresentaram teores de CBM 1,7 e 2,6 vezes superiores aos dos sistemas convencionais (CCQ e CSQ), que não diferiram entre si (Tabela 8). O CBM do sistema CO11 na profundidade 10-20 cm foi 2,0 vezes superior aos dos sistemas convencionais (CCQ e CSQ), que não diferiram entre si. Nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm os sistemas CCQ e CSQ não diferiram quanto ao CBM. Na profundidade 20-40 cm o sistema CSQ apresentou o menor teor de CBM.

O CBM diminuiu com o aumento da profundidade de amostragem do solo na área sob vegetação nativa de cerrado, com uma redução de 60% na profundidade de 20 a 40 cm, em relação aos 10 cm iniciais (Tabela 8). Essa diminuição também ocorreu, nos sistemas cultivados com cana, com exceção do sistema CCQ (interação tratamento x profundidade significativa,  $p<0,05$ ) onde os teores de CBM não variaram significativamente no perfil amostrado (Tabela 8).

A comparação entre os níveis de respiração basal do Cerradão e dos diferentes sistemas de manejo de cana não mostrou tendências consistentes (Tabela 8). Nas profundidades 0-10 e 10-20 cm os níveis de respiração basal não diferiram entre as áreas cultivadas com cana, enquanto na profundidade 20-40 cm, o sistema CCQ apresentou os maiores valores de respiração. Na área sob vegetação nativa houve uma redução de 40% na respiração basal em função do aumento da profundidade (Tabela 8). Enquanto nos sistemas orgânicos CO3 e CO11 a respiração basal na profundidade 0-10 cm foi respectivamente 5,0 e 2,0 vezes maior do que na profundidade 20-40 cm (Tabela 8), nos sistemas convencionais (CSQ e CCQ) ela não diferiu entre as profundidades 0-10 e 20-40 cm (Tabela 8). Cabe destacar que os dados de respiração basal (Tabela 8) apresentaram grande variabilidade e houve um número expressivo de amostras perdidas (valores negativos de respiração). Por esse motivo os dados de respiração e  $qCO_2$  não foram incluídos nas análises de componentes principais (ACP).

O  $qCO_2$  expressa a respiração microbiana por unidade de biomassa microbiana. A área sob Cerradão e o sistema CO11 apresentaram os menores valores de  $qCO_2$ . Embora os sistemas cultivados com cana não tenham diferido estatisticamente com relação a esse parâmetro nas profundidades 0-10 e 20-40cm, na profundidade 10-20 cm os maiores valores de  $qCO_2$  foram observados nos solos sob o cultivo de cana-de-açúcar com manejo convencional CCQ e CSQ. O  $qCO_2$  da área sob Cerradão e das áreas cultivadas com cana não variou significativamente em função da profundidade.

Os níveis de atividade da  $\beta$ -glicosidase na área de Cerradão foram semelhantes aos dos sistemas de cultivo orgânico de cana (CO3 e CO11) e praticamente o dobro dos níveis das áreas sob cultivo convencional (CCQ e CSQ). Nas áreas cultivadas com cana houve uma separação nítida com relação à atividade dessa enzima sendo que os sistemas orgânicos (CO3 e CO11) apresentaram em média, nas três profundidades avaliadas (0-10, 10-20 e 20-40 cm), o dobro de

atividade de  $\beta$ -glicosidase que os sistemas convencionais (CCQ e CSQ). As áreas CCQ e CQS não diferiram quanto aos níveis de atividade da  $\beta$ -glicosidase. A atividade da enzima  $\beta$ -glicosidase diminuiu com o aumento da profundidade de amostragem no Cerradão (vegetação nativa) e nos sistemas de cultivo com cana (Tabela 9). Nos sistemas CCQ, CSQ, CO3 e CO11 e no Cerradão comparando-se as profundidades 0 a 10 cm e 20 a 40 cm, essas reduções foram de: 63, 56, 43, 58 e 37%, respectivamente.

Na profundidade de 0-10 cm a atividade da fosfatase ácida decresceu na seguinte ordem: Cerradão > sistemas orgânicos > CSQ > CCQ (Tabela 9). Em relação às áreas sob cultivo orgânico (CO3 e CO11), a atividade da fosfatase ácida no Cerradão foi em média 4,0, 4,5, e 2,8 vezes maior nas profundidades 0-10, 10-20 e 20-40 cm, respectivamente. Em relação às áreas sob cultivo convencional (CCQ e CSQ) as diferenças foram ainda mais acentuadas, sendo que no Cerradão os níveis de atividade de fosfatase ácida nas profundidades 0-10, 10-20 e 20-40 cm superaram em 8,0, 8,5, e 4,0 vezes, respectivamente, os níveis médios obtidos nessas profundidades nos sistemas sob cultivo convencional (Tabela 9). Com relação aos efeitos dos sistemas de manejo, em média, nas três profundidades avaliadas a atividade da fosfatase ácida nos sistemas orgânicos foi 1,8 vezes superior aos dos sistemas convencionais. O tratamento CSQ apresentou nas profundidades 0-10, 10-20 e 20-40 cm níveis de atividade de fosfatase ácida 1,9, 1,4 e 1,5 vezes maiores que o sistema CCQ, respectivamente. A maior atividade desta enzima na área sem queima está associada aos menores teores de P observados nessa área (Tabela 7), em relação às áreas com cultivo de cana, estimulando a atividade dessa enzima no solo.

Com o aumento da profundidade de amostragem houve, em média, reduções de 48% na atividade da enzima fosfatase ácida na área sob vegetação nativa (Tabela 9). Nas áreas cultivadas com cana a distribuição da fosfatase ácida no perfil do solo variou em função dos sistemas de manejo (interação sistema x profundidade significativa,  $p<0,05$ ). Enquanto que no sistema CO11 a atividade da fosfatase ácida decresceu em média 48% com o aumento da profundidade, nos demais sistemas os níveis de atividade dessa enzima não diferiam entre a profundidade mais superficial (0-10 cm) e a mais profunda (20-40 cm) avaliadas (Tabela 9).

Nas três profundidades avaliadas a atividade da arilsulfatase foi maior no Cerradão (Tabela 9). Nas áreas cultivadas com cana, independentemente da

profundidade avaliada, o sistema CO11 apresentou os maiores níveis de atividade dessa enzima e o sistema CCQ os menores níveis de atividade, na profundidade de 0-10 cm com valores inferiores a 15 ug p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>, considerados muito baixos (LOPES, 2012). Em relação ao sistema CO11, a atividade da arilsulfatase na área de Cerradão foi em média 1,4, 2,4, e 1,7 vezes maior nas profundidades 0-10, 10-20 e 20-40 cm, respectivamente. Em relação às demais áreas sob cultivo de cana (CCQ, CSQ e CO3) as diferenças foram ainda mais acentuadas, sendo que no Cerradão os níveis de atividade da arilsulfatase nas profundidades 0-10, 10-20 e 20-40 cm superaram em 8,2, 11,9, e 10,3 vezes, respectivamente, os níveis médios obtidos nessas profundidades nesses sistemas. Em média, nas três profundidades avaliadas a atividade da arilsulfatase no CO11 anos superou em 7,0 vezes as atividades determinadas nos sistemas convencionais. Os níveis de atividade dessa enzima no sistema CO3 não diferiram do CSQ e apenas na profundidade 0-10 cm, a atividade da arilsulfatase do sistema CSQ superou a atividade do CCQ.

Na área sob Cerradão, a atividade da arilsulfatase, diminuiu em função do aumento da profundidade, 0-10 cm X 20-40 cm (Tabela 9). Nas áreas cultivadas com cana a interação sistemas de manejo x profundidade foi significativa ( $p<0,05$ ) sendo que, com exceção do sistema CCQ, onde os níveis de arilsulfatase foram semelhantes nas três profundidades avaliadas, nos demais sistemas a atividade da arilsulfatase também diminuiu com o aumento da profundidade (Tabela 9).

**Tabela 8.** Matéria orgânica do solo (MO), carbono da biomassa microbiana do solo (CBM), respiração basal e quociente metabólico ( $qCO_2$ ) nas profundidades (0-10, 10-20 e 20-40 cm), sob diferentes sistemas de cultivo de cana-de-açúcar e solo sob vegetação nativa (Cerradão).

Áreas	MOS (g.kg <sup>-1</sup> )			CBM (mg.Kg <sup>-1</sup> )			Respiração (mg.C-CO <sub>2</sub> . kg <sup>-1</sup> )			$qCO_2$		
	0-10	10-20	20-40	0-10	10-20	20-40	0-10	10-20	20-40	0-10	10-20	20-40
CCQ	15b A	13 ab AB	11a B	175c A	135b A	179a A	79a A	91a A	68a A	0,7a A	0,9a A	0,4a A
CSQ	13b A	12 b A	9 aB	171c A	134b A	55b B	59a A	59a A	43ab A	0,3a A	0,5ab A	0,8a A
CO3	17b A	15 a A	11a B	290b A	216ab B	162ab C	132a A	33a B	26b B	0,5a A	0,2c A	0,2a A
CO11	24a A	17 a B	12 a C	444a A	320a B	195a C	41a A	70a A	21b A	0,1a A	0,2bc A	0,1a A
Cerradão	31±1,6	24±1,9	17±0,9	960 ±130	662 ±84,7	396 ±31	123 ±12	89 ±22	74 ±12	0,1 ±0,03	0,1 ±0,01	0,2 ±0,05

CCQ – cultivo convencional com queima; CSQ – cultivo convencional sem queima; CO3 – cultivo orgânico há 3 anos; CO11 – cultivo orgânico há 11 anos. MOS – matéria orgânica do solo; CBM- carbono da biomassa microbiana. Médias seguidas de mesma letra minúsculas (coluna) e maiúsculas (linha) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student ( $p<0,05$ ).

**Tabela 9** - Atividade das enzimas do solo  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida nas profundidades (0-10, 10-20 e 20-40 cm), sob diferentes sistemas de cultivo de cana-de-açúcar e solo sob vegetação nativa (Cerradão).

Áreas	$\beta$ -Glicosidase			Fosfatase Acida			Arilsulfatase		
	$\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$								
	0-10	10-20	20-40	0-10	10-20	20-40	0-10	10-20	20-40
CCQ	40b A	32c AB	23b B	165d A	167c A	191c A	13c A	12,5b A	12b A
CSQ	40b A	30c B	17b C	319c A	237b B	294b A	46b Ac	33,6b A	15b B
CO3	102a A	71a B	38a C	442b A	401a A	427a A	61b A	41,1b B	20b C
CO11	99a A	61b B	44a C	558a A	365a B	262b C	235a A	144,4a B	94a C
Cerradão	79 $\pm$ 13	58 $\pm$ 7	50 $\pm$ 8	1958 $\pm$ 159	1720 $\pm$ 363	950 $\pm$ 45	330 $\pm$ 34	349 $\pm$ 69	161 $\pm$ 4

CCQ – cultivo convencional com queima; CSQ – cultivo convencional sem queima; CO3 – cultivo orgânico há 3 anos; CO11 – cultivo orgânico há 11 anos. Médias seguidas de mesma letra minúsculas (coluna) e maiúsculas (linha) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student ( $p < 0,05$ ).

### 3.2 QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO

O resultado das análises de componentes principais (ACP) nas profundidades 0-10, 10-20 e 20-40 cm são apresentados nas figuras 16, 17 e 18, respectivamente. Essas figuras mostram a distribuição dos sistemas de cultivo de cana e da área sob cerradão, de acordo com as similaridades quanto aos atributos biológicos dos solos considerados na matriz primária (CBM e atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida). A figura 19 apresenta a representação esquemática de todas as três profundidades.

Nas figuras 16, 17 e 18 verifica-se que nas três profundidades avaliadas a qualidade biológica do solo, aqui definido como a análise conjunta dos atributos biológicos, discriminou os sistemas de manejo investigados e a área de cerradão. Apenas os eixos 1 e 2 foram interpretados, pois, o eixo 3, ou não foi significativo ou explicava pouco da variação. Nas profundidades de 0-10, 10-20 e 20-40 cm o eixo 1 foi responsável por 85,1, 97,4 e 91,4%, respectivamente, da variabilidade total dos dados. O eixo 2, explicou 14,2, 2,3 e 7,3% desta variabilidade nas profundidades de 0-10, 10-20 e 20-40 cm, respectivamente.

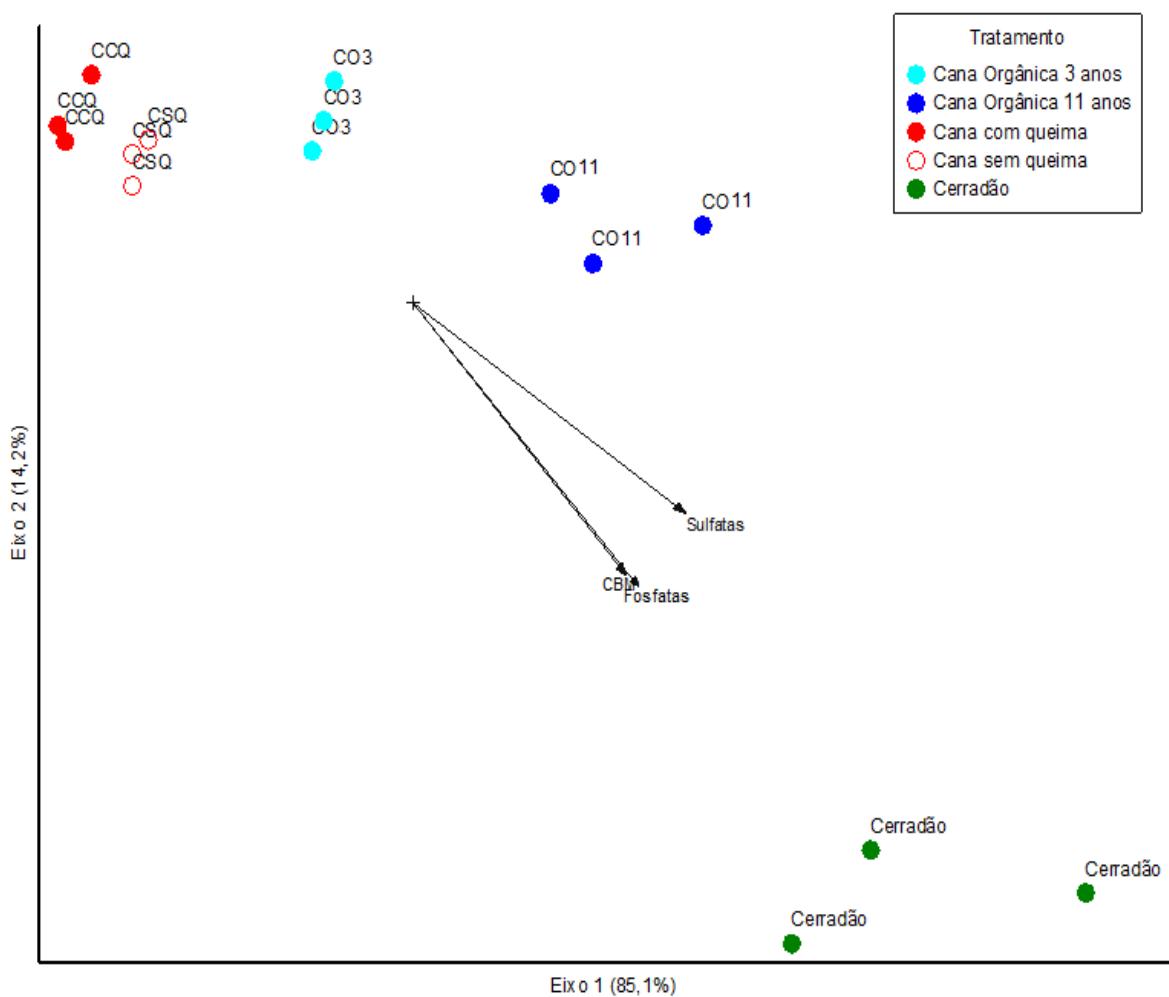
Cada variável microbiológica contribuiu diferentemente para a distinção das áreas avaliadas. Quanto maior o comprimento dos raios, mais correlacionada é a variável com o eixo ao qual é paralela. Raios oblíquos correlacionam-se com os dois eixos. A variável que não obteve uma correlação mínima de 0,5 (50%) com os eixos, não tem o raio representado na análise multivariada, o que explica a ausência da variável ( $\beta$ -glicosidase) na profundidade 0-10 cm (Figura 16). Todas as variáveis se correlacionaram aos dois eixos (raios oblíquos) e sempre no sentido da área sob Cerradão. Observando os valores das variáveis microbiológicas (Tabelas 8 e 9), comprova-se a forte influência que os atributos citados exercem na diferenciação das áreas.

A formação de grupos distintos ao longo do CP1 (componente principal 1) evidenciou as mudanças na qualidade biológica do solo após a sua conversão em área cultivada e obedeceu o gradiente CCQ < CSQ < CO3 < CO11, na profundidade 0-10cm (Figura 16). Nas profundidades 10-20 cm (Figura 17) e 20-40 cm (Figura 18) os sistemas com e sem queima formaram um mesmo agrupamento obedecendo ao seguinte gradiente CCQ=CSQ < CO3 < CO11 < Cerradão. Com base nessas

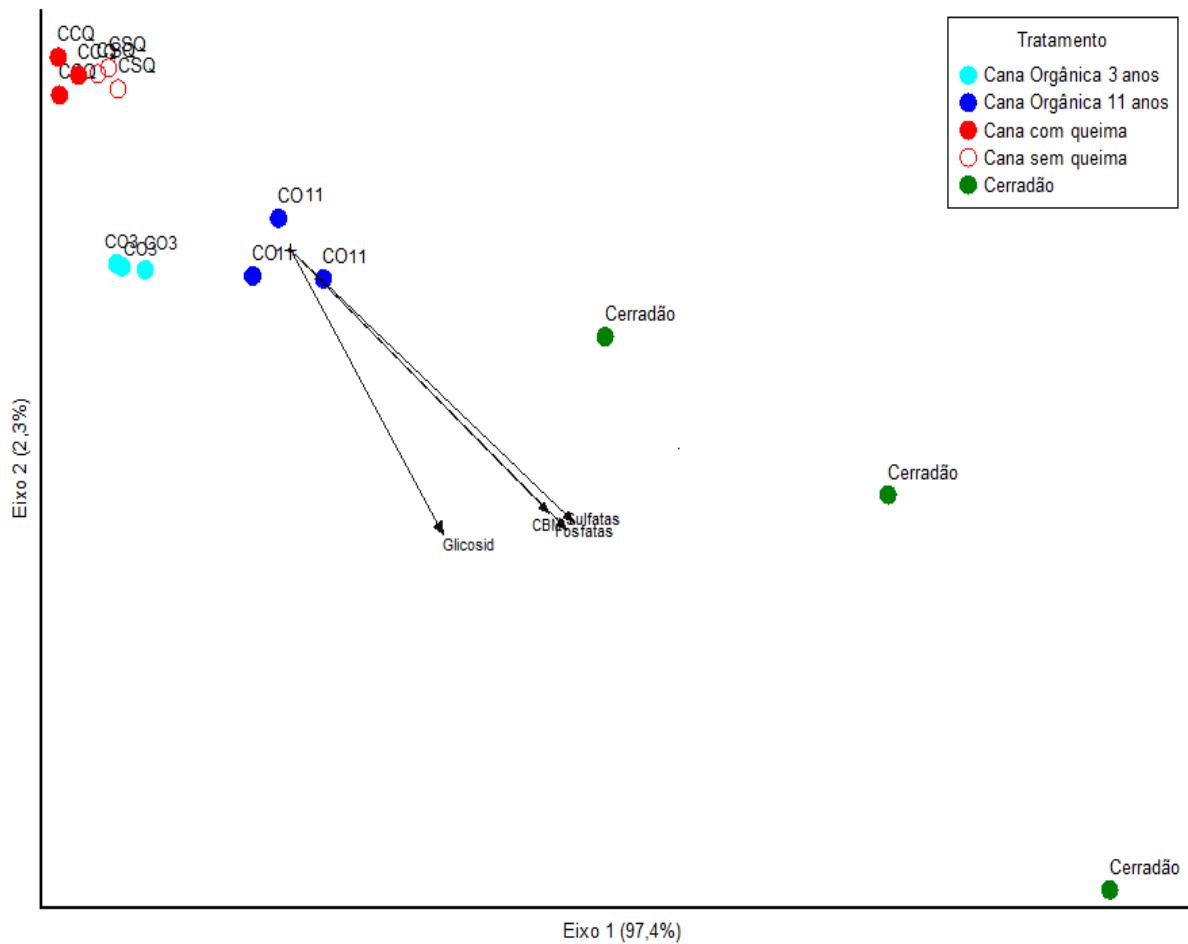
observações, é possível inferir a ocorrência de um gradiente crescente de qualidade biológica do solo, da esquerda para a direita do CP1, em que os sistemas de cultivo convencional de cana foram os que promoveram redução mais acentuada dessa qualidade.

A figura 4 apresenta a representação gráfica das cinco áreas, nas três profundidades avaliadas. Verifica-se que as áreas CO11 (profundidades 0-10 e 10-20 cm) e CO3 (profundidade 0-10 cm) foram as que mais se aproximaram da área de Cerradão na profundidade de 20-40 cm.

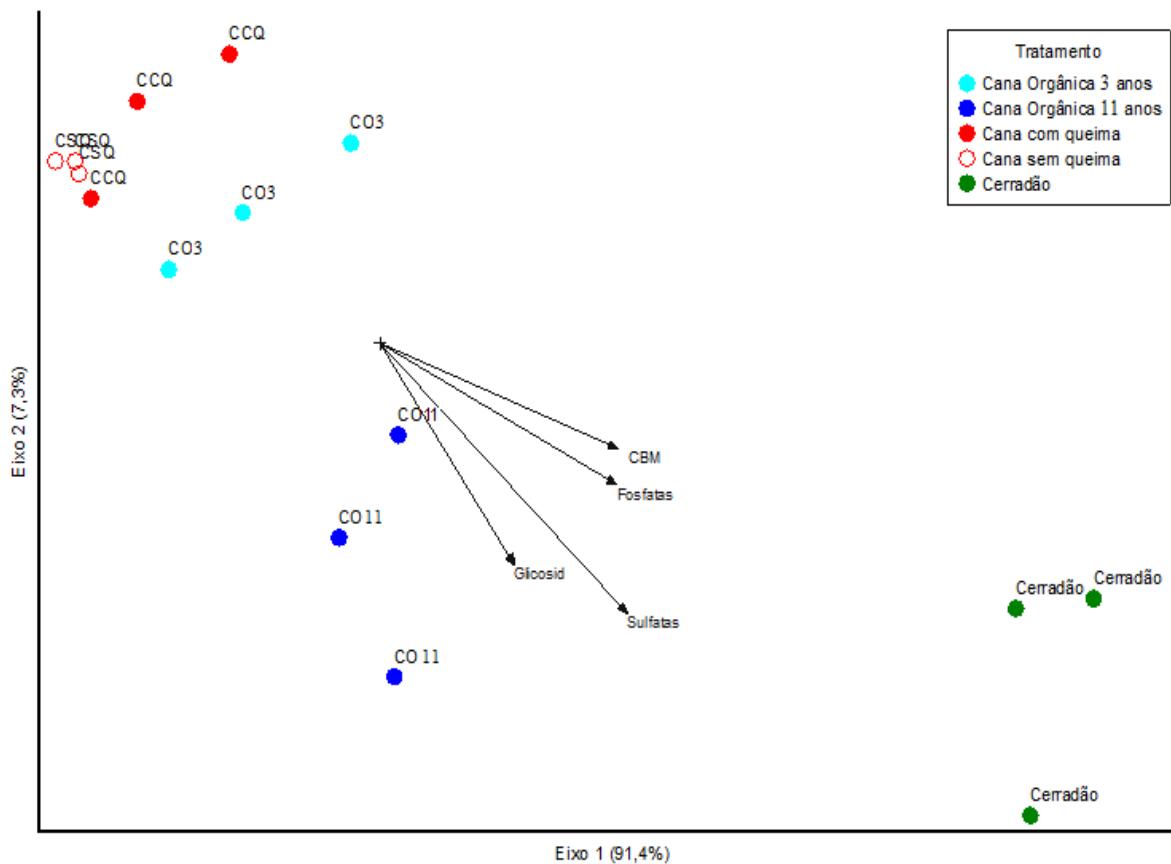
**Figura 16-** Análises de componentes principais (ACP) representando a distribuição das cinco áreas, nas profundidades 0-10 cm, de acordo com as similaridades nas propriedades microbiológicas dos solos consideradas na matriz primária. CBM- carbono da biomassa microbiana; fosfatas – fosfatase ácida; sulfatas – arilsulfatase.



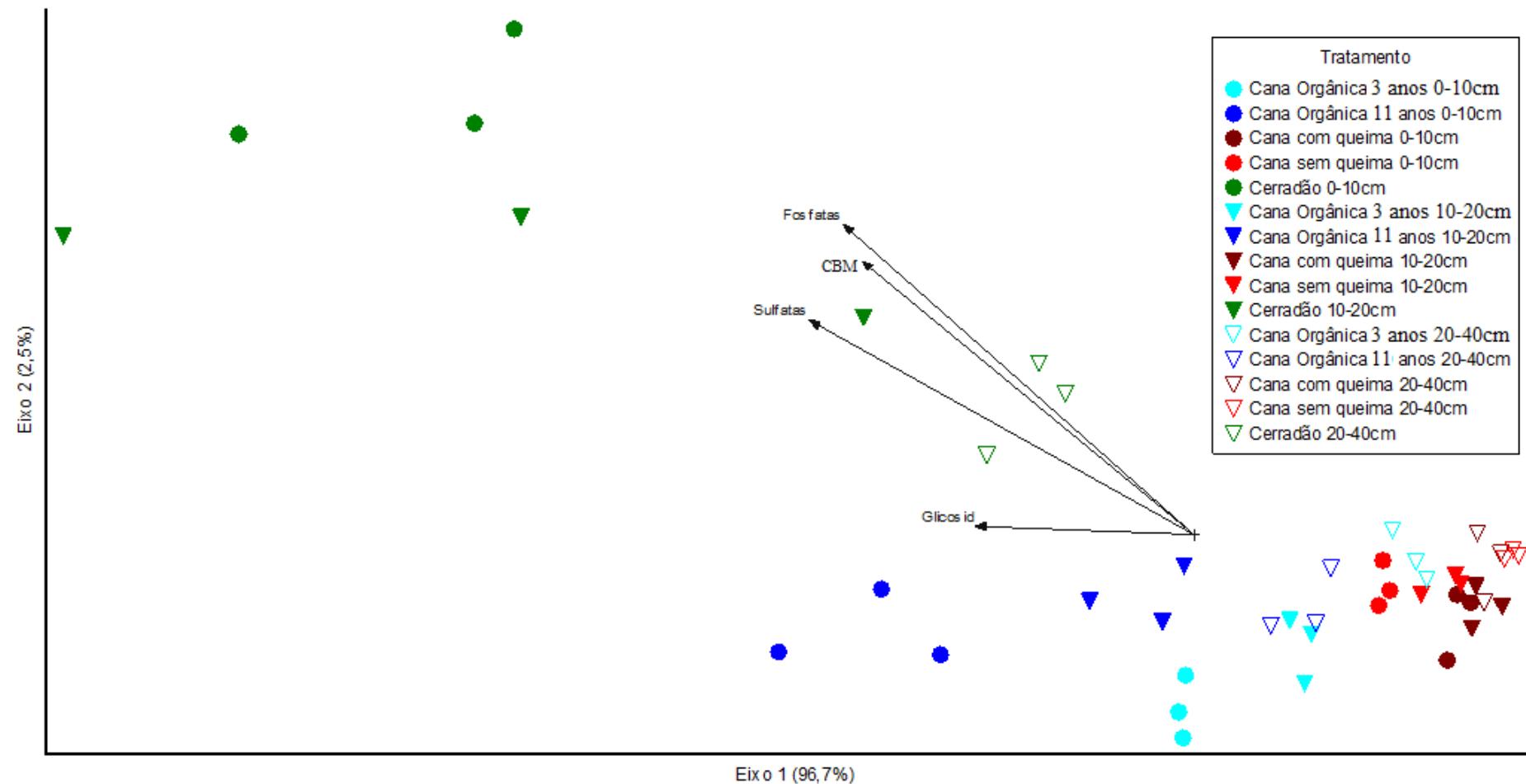
**Figura 17-** Análises de componentes principais (ACP) representando a distribuição das cinco áreas, nas profundidades 10-20 cm, de acordo com as similaridades nas propriedades microbiológicas dos solos consideradas na matriz primária. CBM- carbono da biomassa microbiana; glicosid -  $\beta$ -glicosidase; fosfatas – fosfatase ácida; sulfatas – arilsulfatase.



**Figura 18-** Análises de componentes principais (ACP) representando a distribuição das cinco áreas, nas profundidades 20-40 cm, de acordo com as similaridades nas propriedades microbiológicas dos solos consideradas na matriz primária. CBM- carbono da biomassa microbiana; glicosid -  $\beta$ -glicosidase; fosfatas – fosfatase ácida; sulfatas – arilsulfatase.



**Figura 19-** Análises de componentes principais (ACP) representando a distribuição das cinco áreas, nas profundidades 0-10, 10-20 e 20-40 cm, de acordo com as similaridades nas propriedades microbiológicas dos solos consideradas na matriz primária. CBM- carbono da biomassa microbiana; glicosid -  $\beta$ -glicosidase; fosfatas – fosfatase ácida; sulfatas – arilsulfatase.



#### 4 DISCUSSÃO

Considerando o histórico de mais de 50 anos desde a abertura das áreas e incorporação do processo agrícola, as comparações entre a área sob Cerradão e as áreas atualmente cultivadas com cana na Usina Jalles Machado revelaram maiores teores de MOS, CBM e de atividade de fosfatase ácida e arilsulfatase nas áreas sob Cerradão. A respiração basal não apresentou diferença significativa entre os sistemas nas profundidades de 0-10 e 10-20cm, mas na profundidade de 20-40cm as áreas sob cultivo orgânico tiveram os menores valores de respiração basal em relação as áreas sob cultivo convencional. Enquanto os menores valores de  $q\text{CO}_2$  foram determinados no Cerradão. A atividade da  $\beta$ -glicosidase nas áreas com cana orgânica foi o único parâmetro das áreas cultivadas cujos níveis se assemelharam ao do Cerradão.

Reduções nos teores de MOS em áreas cultivadas com cana comparativamente a áreas nativas foram reportadas por Cerri e Andreux (1990); Caron et al. (1996) e Silva, Griebeler e Borges (2007). No presente estudo essas reduções foram mais acentuadas nos tratamentos sob cultivo convencional com e sem queima e menos acentuadas no sistema CO11 mostrando que o uso de vinhaça e da torta de filtro (SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2007) pode compensar perdas de MOS.

As perdas de MOS nas áreas cultivadas com cana também implicaram em perdas de CBM nessas áreas, em relação à área nativa, embora as reduções no CBM tenham sido ainda mais acentuadas. O maior conteúdo de CBM na área de Cerradão indica uma condição mais favorável à microbiota do solo, possivelmente, associada ao aporte maior, contínuo e variado de substratos orgânicos provenientes da maior diversidade de espécies na vegetação nativa, com diferentes graus de suscetibilidade à decomposição (D'ANDRÉA et al. 2002, MATSUOKA; MENDES; LOUREIRO, 2003, MENDES et al. 2003 e SILVA, 2008). Outro fator que torna as condições mais favoráveis para a biomassa microbiana em solos sob vegetação nativa é o acúmulo de serapilheira, que condiciona menor variação e níveis mais adequados de temperatura e umidade (MATSUOKA; MENDES; LOUREIRO, 2003). Nas áreas cultivadas as operações mecânicas de revolvimento/movimentação do solo, contribuem significativamente para a redução dos teores de MOS e de CBM,

pois causam a ruptura dos agregados de solo, estimulando a atividade biológica e acelerando a oxidação da MOS (LAL, 2002). Nesse sentido, embora se trate de um cultivo semi-perene, destaca-se o uso do arado de aiveca de grade niveladora por ocasião da renovação do canavial e também o trânsito de máquinas e caminhões nas estrelinhas, por ocasião dos tratos culturais e da colheita da cana.

As maiores atividades da fosfatase ácida e da arilsulfatase no Cerradão evidenciam a dependência das áreas naturais com relação à atividade enzimática para a ciclagem do P e S orgânicos. Nas áreas cultivadas com cana o uso de fertilizantes reduz essa dependência, causando redução na atividade enzimática (CARNEIRO et al., 2004; MENDES et al. 2003; PEIXOTO et al., 2010). Por outro lado os menores valores de  $qCO_2$  nas áreas de Cerradão em relação às áreas cultivadas refletem um ambiente mais estável ou mais próximo do seu estado de equilíbrio (TÓTOLA; CHAER, 2002), enquanto que os valores elevados de  $qCO_2$  observados nas áreas cultivadas, são indicativos de ecossistemas submetidos a alguma condição de estresse ou de distúrbio.

Em todas as profundidades avaliadas os sistemas de cultivo orgânico CO3 e CO11 apresentaram maiores níveis de CBM e atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida. No caso da arilsulfatase apenas o CO11 apresentou maiores atividades em relação aos demais tratamentos. Esse efeito está relacionado à utilização, nessas áreas, dos adubos orgânicos torta de filtro (mistura de bagaço moído e lodo da decantação) e vinhaça (resíduo do processo de destilação). Esses produtos são resíduos da agroindústria canavieira, que representam importantes aportes de matéria orgânica, potássio (vinhaça) e fósforo (torta de filtro), os quais estimulam a biomassa e atividade enzimática, seja devido ao acúmulo de substrato para a sua atuação, seja como fonte de micro-organismos produtores de enzimas. A ausência do uso de defensivos agrícolas não seria de acordo com Guanapala e Scow (1998), um fator preponderante, pois à exceção dos fumigantes, defensivos agrícolas aplicados nas doses recomendadas e obedecendo ao manejo integrado de pragas não afetam significativamente a biomassa e atividade microbianas no solo. Como geralmente o suprimento de C é um dos fatores mais limitantes ao crescimento microbiano no solo, a adição de adubos verdes e o uso de compostagem e resíduos animais, em grande escala, teria um efeito bem mais acentuado que a ausência de pesticidas, nos sistemas orgânicos. Resultados semelhantes vêm demonstrando os benefícios da adubação orgânica para os

atributos biológicos do solo e foram reportados por Fraser et al. (1988) em 4 sistemas de rotação: aveia/trevo, milho/aveia/trevo/soja, milho /soja e milho contínuo no leste de Nebraska; Scow et al. (1994) e Tu, Ristaino e Hu (2006) em sistemas de cultivo de tomate orgânico na Califórnia e na Carolina do Norte, respectivamente; em pomares de maça cultivados organicamente no sul do Brasil (MALUCHE-BARETTA et al., 2007) e no estado de Washington nos EUA (GLOVER; REGANOLD; ANDREWS, 2000).

Os efeitos ambientais adversos causados pela queima dos canaviais é um dos principais fatores que têm impulsionado o sistema de colheita “verde” da cana, onde a queima é substituída pelo uso de máquinas colheitadeiras. Essa mudança no sistema de colheita afeta o aporte de resíduos vegetais ao sistema aumentando os teores de C orgânico no solo (MENDOZA et al. 2000; CANELLA et al. 2003; SOUZA, 2005) e contribuindo para melhorias na qualidade física do mesmo (SOUZA, 2005) nas áreas onde a queima é substituída pela colheita mecanizada. No presente estudo, onde o sistema de colheita sem queima havia sido estabelecido há 2,5 anos não foram observadas alterações nos conteúdos de MOS e CBM entre as áreas com e sem queima. A atividade das enzimas fosfatase ácida (em todas as três profundidades avaliadas) e arilsulfatase (apenas na profundidade 0-10 cm) diferiram entre os dois sistemas sendo menores nos sistemas com queima. Embora alguns trabalhos na literatura reportem reduções na atividade enzimática do solo em função de queimadas (DICK, 1994; STADDON; DUCHESNE; TREVORS, 1998), considerando o curto período de estabelecimento do tratamento sem queima na Usina Jalles Machado (2,5 anos) e o fato de que a textura do solo da área sem queima é mais arenosa (quase o dobro do conteúdo de partículas de areia) do que o da área com queima (Tabela 3), é possível que no presente estudo esses aumentos estejam mais relacionados às textura do solo do que aos efeitos da queima. No caso específico da fosfatase ácida, o maior teor de argila do solo da área com queima contribuiu para aumentar a capacidade de retenção de P (essa área apresentou teores médios de P-Mehlich, nas três profundidades avaliadas, 2,6 vezes maiores que o da área sem queima, (Tabela 2), sendo este aumento um fator importante para diminuir a atividade da fosfatase ácida, uma vez que o P-inorgânico inibe a atividade dessa enzima (CARNEIRO et al., 2004, PEIXOTO et al., 2010).

Os dados de CBM nas áreas com e sem queima da Usina Jalles Machado estão de acordo com Barbosa (2010) que também amostrou nessa usina e não

observou diferenças entre esses tratamentos. Sant'anna et al. (2009) também não observaram diferenças significativas na biomassa microbiana em canaviais alagoanos com 28 anos de idade submetidos a queima e onde o sistema de colheita sem queima havia sido estabelecido há 3 anos. Por outro lado, Graham, Haynes e Van Antwerpen (2002) e Graham e Haynes (2005a), reportaram reduções na biomassa e na atividade de enzimas relacionadas aos ciclos do C, N, P e S em canaviais da África do Sul com 60 anos de idade submetidos a queima. Sousa et al. (2012) também reportaram reduções significativas na biomassa microbiana em canaviais paulistas, cultivados com queima e sem queima por um período de 17 anos.

Reduções na atividade e na biomassa microbiana em função do aumento da profundidade do solo estão relacionadas com a diminuição da disponibilidade de substratos orgânicos (AGNELLI et al. 2004; EKELUND; RØNN; CHRISTENSEN. 2001; WITTMANN et al. 2004). Na área sob Cerradão, onde a ausência de revolvimento do solo e a influência de longa duração da vegetação promovem o acúmulo de resíduos vegetais e raízes nas camadas mais superficiais do solo e nos sistemas orgânicos CO3 e CO11 onde ocorrem adições frequentes de adubos de origem orgânica na superfície, os gradientes de profundidade foram mais acentuados e frequentes. Na área sob cultivo convencional com queima vários atributos microbiológicos não apresentaram gradientes de profundidade (CBM, fosfatase ácida, arilsulfatase, respiração basal), evidenciando como a eliminação dos resíduos vegetais na superfície do solo pela queima interfere na estratificação das comunidades microbianas do solo.

Com relação à qualidade biológica do solo, a maior proximidade do sistema CO11 da área sob Cerradão, reflete os efeitos benéficos do aporte de resíduos orgânicos para a biomassa e atividade enzimática do solo. Há alguns anos atrás, a torta de filtro e principalmente a vinhaça eram despejados nos rios causando sérios problemas de poluição ambiental. Os resultados do presente estudo mostram que a além da redução nos custos de produção, o aproveitamento desses resíduos também contribui para a melhoria da qualidade biológica do solo. Os resíduos orgânicos utilizados para adubação favorecem os processos de adição de carbono orgânico ao solo, com reflexos diretos na sustentabilidade do sistema devido aos efeitos do incremento da matéria orgânica nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (DORAN,1980; SPARLING, 1997).

Em contrapartida, as áreas sob cultivo convencional com a queima dos canaviais formaram o grupo mais distante das áreas com cerrado nativo, efeito associado à menor quantidade de resíduos de plantas deixados sobre a superfície do solo, impactando diretamente a comunidade microbiana (MENDONZA et al., 2000; SOUZA et al., 2012). Neste contexto, Pinheiro et al. (2007), relatou que o sistema de colheita sem a queima da palhada apresentou 11% a mais de C estocado no solo comparado com o sistema de cana queimada, até 100 cm de profundidade no Espírito Santo. O efeito do fogo sobre as propriedades do solo pode variar de acordo com as condições ambientais no momento da queima e do tipo de solo, além da intensidade, da duração e da frequência das queimadas (BRINKLEY et al., 1994). Nardoto e Bustamante (2003) encontraram um rápido aumento na biomassa microbiana e mineralização de N no solo em áreas de Cerrado logo após a queimada da área e também um ligeiro decréscimo após exaurir as fontes de energia aos micro-organismos.

As variáveis que mais contribuíram para a separação das áreas nativas foram o CBM e a atividade da enzima fosfatase ácida. Embora a atividade da enzima  $\beta$ -glicosidase não tenha aparecido na figura 1, pois não obteve uma correlação mínima de 0,5 (50%) com os eixos, foi a que mais contribuiu para distinção das áreas sob cultivo orgânico da cana-de-açúcar, principalmente da área com cultivo há 11 anos, em relação às áreas sob cultivo convencionais com e sem queima. Comparando-se os valores dos atributos microbiológicos (Tabelas 8 e 9) e os de MOS, nas três profundidades avaliadas, verifica-se a contribuição dos atributos microbiológicos para a diferenciação das áreas evidenciando a importância de estudos para selecionar os atributos microbiológicos mais apropriados para cada situação, sempre levando em consideração as diferentes condições edafoclimáticas e sistemas de manejo.

Em relação ao referencial de qualidade biológica do solo, que no presente estudo foi a área sob vegetação nativa, os efeitos benéficos do manejo orgânico da cana de açúcar sobre a qualidade biológica de solos de Cerrado se somam a outros efeitos relacionados à redução nas emissões de CO<sub>2</sub> (provenientes da ausência da queima) e reutilização da vinhaça e da torta de filtro para fertilizar o solo. Além disso, o melhor estado nutricional da área sob 11 anos de manejo orgânico tem possibilitado a obtenção de cortes economicamente rentáveis (superiores a 60 ton/ha/ano) há 10 anos consecutivos sem necessidade de renovação do canavial.

(Tabela 5), fazendo com que apesar dos maiores custos de implantação o sistema de manejo orgânico apresente lucratividade superior aos sistemas convencionais, conforme também verificado por Matsuoka et al. (2002) e Rampassi (2008).

## 5 CONCLUSÕES

- Considerando o histórico de mais de 50 anos desde a abertura das áreas e incorporação do processo agrícola, as comparações entre a área sob Cerradão e as áreas cultivadas com cana na Usina Jalles Machado revelaram maiores teores de MOS, CBM e de atividade de fosfatase ácida e arilsulfatase nas áreas sob Cerradão. A respiração basal não apresentou diferenças significativas entre os sistemas de manejo nas camadas mais superficiais, enquanto os menores valores de  $qCO_2$  foram determinados no Cerradão. A atividade da  $\beta$ -glicosidase nas áreas com cana orgânica foi o único parâmetro das áreas cultivadas cujos níveis se assemelharam ao do Cerradão.
- Em todas as profundidades avaliadas os sistemas de cultivo orgânico CO3 e CO11 apresentaram maiores níveis de CBM e atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida. No caso da arilsulfatase apenas o CO11 apresentou maiores atividades em relação aos demais tratamentos.
- No presente estudo, onde o sistema de colheita sem queima havia sido estabelecido há 2,5 anos não foram observadas alterações nos conteúdos de MOS e CBM entre as áreas com e sem queima, embora a textura do solo da área sem queima fosse mais arenosa (quase o dobro do conteúdo de partículas de areia) do que a da área com queima.
- Na área sob Cerradão e nos sistemas orgânicos CO3 e CO11 houve reduções na atividade e na biomassa microbiana em função do aumento da profundidade do solo. No sistema de cultivo com queima o CBM, fosfatase ácida, arilsulfatase e respiração basal não apresentaram gradientes de profundidade.
- Em relação ao referencial de qualidade biológica do solo, que no presente estudo foi a área sob vegetação nativa, os sistemas de cultivo convencional de cana foram os que promoveram redução mais acentuada dessa qualidade e os sistemas de manejo orgânico da cana de açúcar os que promoveram incrementos nessa qualidade.

## REFERÊNCIAS

- AGNELLI, et al. Distribution of microbial communities in a forest soil profile investigated by microbial biomass, soil respiration and DGGE of total and extracellular DNA. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 36, p. 859-868, 2004.
- AJWA, H.A.; DELL, C.J.; RICE, C.W. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. **Soil Biology & Biochemistry**, v.31, p.769–777. 1999.
- ALMEIDA FILHO, A. J. **Impacto ambiental da queima controlada da cana-de-açúcar sobre a entomofauna**. Piracicaba, 1995. 64f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.
- ALVES, B.J.R, et al. **Dinâmica do carbono em solos sob pastagem**. In. SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO. F.A.O., ed. Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais. 2.ed. Porto Alegre, Metrópole, 2008. p.561-569.
- ALVES, T. S., et al. Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes sistemas de manejos. **Acta Scientiarum. Agronomy.**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 341-347, 2011.
- AMANN, R.I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K.H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 59, p. 143-169, 1995.
- ANDERSON T. H., DOMSCH KH. Application of eco-physiological quotients (qCO<sub>2</sub> and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. **Soil Biology and Biochemistry**. v.22, p. 251–255, 1990.
- ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 393-395, 1993.
- AQUINO, F. G., et al. Módulos para Recuperação de Cerrado com Espécies Nativas de Uso Múltiplo. Embrapa Cerrados – Planaltina –DF, 50p. 2009 (Documentos, 250).

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R.; ABARKELI, R. B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 52, p. 799-804, 2003.

ARAÚJO, E. F. L., et al. The effect of converting tropical native savanna to eucalyptus grandis forest on soil microbial biomass. **Land Degradation Development**, v. 21, p.540- 545, 2010.

ARAÚJO, R.; GOEDERT, W. J.; LACERDA, M. P. C. Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 1099-1108, 2007.

BAI, Z.G., et al. **Global assessment of land degradation and improvement**. 1. Identification by remote sensing. Wageningen: ISRIC – World Soil Information, 2008. p.78.

BALDRIAN, P., J., et al. Enzyme activities and microbial biomass in topsoil layer during spontaneous succession in spoil heaps after brown coal mining. **Soil Biology and Biochemistry**., v. 40, p. 2107-2115. 2008

BALIGAR, V.C.; WRIGHT, R.J.; SMEDLEY, M.D. Enzyme activities in hill land **soils of the Appalachian region**. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v. 19, p. 367-384, 1988.

BALOTA, E.L., et al. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 641-649, 1998.

BANDICK, A.K.; R.P. DICK. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry**. v.31, p.1471–1479, 1999.

BARBOSA, A. S.; SCHIMITZ, P. I. **Ocupação Indígena do Cerrado: esboço de uma história**. In: SANO, Sueli. M; ALMEIDA, Semíramis. P; RIBEIRO, José. F. Cerrado Ecologia e Flora. Embrapa Cerrados. Brasília, DF, 2008.

BARBOSA, L. A. **Impacto de sistemas de cultivo orgânico e convencional da cana-de-açúcar, nos atributos do solo**. Brasília, 2010. 80 f. Dissertação (Mestrado Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária), Universidade de Brasília, 2010.

BASTIDA, F., et al. Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. **Applied Soil Ecology**, v.40, p.318-329, 2008.

\_\_\_\_\_. Microbiological degradation index of soils in a semiarid climate. **Soil Biology and Biochemistry**, v.38, p.3463–3473, 2006.

BENDING, G.D.; PUTLAND, C.; RAYNS, F. Changes in microbial community metabolism and labile organic matter fractions as early indicators of the impact of management on soil biological quality. **Biology and Fertility of Soils**. New York, v. 31, n. 1, p. 78-84, 2000.

BENDING, G.D, et al. Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, p. 1785–1792, 2004.

BERTINI, S. C. B. **Indicadores microbiológicos de qualidade do solo em Florestas de Araucária no Estado de São Paulo**. 2010. Tese (Doutorado em Ciências) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 108 p., 2010.

BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: recent progress and perspectives for the future. **Fertility Research**, v. 42, p. 241-250. 1995.

BORLAUG, N.E. **Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead**. In: Bailey, R. (Ed.). Global warming and other eco-myths. Competitive Enterprise Institute, Roseville, EUA, p. 29-0, 2002.

BRASIL. Câmara dos Deputados. **Projeto de Lei nº 1.876/99**. Brasília, DF, 25 de abril de 2012. Disponível em: <<http://www.codigoflorestal.com/2012/04/eis-redacao-final-do-novo-codigo.html>>. Acesso em: 01 de jul. 2012.

BRESOLIN, J.D., et al. Structure and composition of bacterial and fungal community in soil under soybean monoculture in the Brazilian Cerrado. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, p.391 - 403, 2010.

BRINKLEY, D., et al. Soil chemistry in a loblolly/longleaf pine forest with interval burning. **Ecological Applications**, v. 2, p. 157-164, 1994.

BRONOWSKI, J. **A escalada do homem**. São Paulo: Martins Fontes/Universidade de Brasília, 1983. 2ed. 448p.

BUNEMANN, E.K.; SCHWENKE, G.D.; VAN ZWIETEN, L. Impact of agricultural inputs on soil organisms - a review. **Australian Journal Soil Research**, v. 44, p.379-406, 2006.

BURGESS, T. I.; WINGFIELD, B. D.; WINGFIELD, M. J. Comparison of genotypic diversity in nature and introduced populations of *Sphaeropsis sapinea* isolated from *Pinus radiata*. **Mycological Research**, Cambridge, v. 105, n. 11, p. 1331 - 1339, 2001.

CALBRIX, R.; LAVAL, K.; BARRAY, S. Analysis of the potential functional diversity of the bacterial community in soil: a reproducible procedure using sole-carbon-source utilization profiles. **European Journal of Soil Biology**, Amsterdam, v. 41, n. 1-2, p.11-20, 2005.

CALDERÓN, F.J., et al. Short-term dynamics of nitrogen, microbial activity, and phospholipid fatty acids after tillage. **Soil Science Society of America Journal**, v.65, p.118-126, 2001.

CAMPELLO, E. F. C. Sucessão vegetal na recuperação de áreas degradadas. In: DIAS, L. E.; MELLO, J. W. V. de (Ed.). **Recuperação de áreas degradadas**. Viçosa: UFV, 1998. p. 183-194.

CAMPELO, I. S. G. **Comunidades microbianas e qualidade do solo em povoamentos de eucalipto**. Tese (Doutorado). Departamento de Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1 31p, 2008.

CAMPOS, D. C. **Influência da mudança do uso da terra sobre a matéria orgânica no município de São Pedro-SP**. 1998. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) Escola Superior de Agricultura de Luiz de Queiroz, Piracicaba, 83 p., 1998.

\_\_\_\_\_. **Potencialidade do sistema de colheita sem queima da cana-de-açúcar para o seqüestro de carbono**. Piracicaba, 2003. Tese (doutorado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.

CANELLA, L.P. et al. Propriedades químicas de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhço e adição de vinhaça por longo tempo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p.935-944, 2003.

CARAVACA, F., MASIANDARO, G.; CECCANTI, B. Land use in relation to soil chemical and biochemical properties in a semiarid Mediterranean environment. **Soil and Tillage Research**, p.23–30, 2002.

CARON, J.; ESPINDOLA, C. R.; ANGERS, D. A. Soil structural stability during rapid wetting: influence of land use on some aggregate properties. **Soil Science Society of America Journal**, v.60, p.901-908, 1996.

CARNEIRO, M. A. C. **Características bioquímicas do solo em duas cronomossequências de reabilitação em áreas de mineração de bauxita**. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 166 p., 2000.

CARNEIRO, M.A.C.; et al. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa e atividade microbiana do solo em duas cronomossequências de reabilitação após a mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 621-632, 2008a.

\_\_\_\_\_. Atributos bioquímicos em dois solos de cerrado sob diferentes sistemas de manejo e uso. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. v. 38, p. 276-283, 2008b.

CARNEIRO, R.G., et al. Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 39, p. 661-669, 2004.

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

CERRI, C.C.; ANDREUX, F.G. Changes in organic carbon content in oxisols cultivated with sugar cane and pastures based on  $^{13}\text{C}$  natural abundance measurement. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF SOIL SCIENCE, 14., 1990, Kyoto. **Anais**, v. 4, 1990, p. 98-103.

CERRI, C. C.; VOLKOFF, B.; EDUARDO, B. P. Efeito do desmatamento sobre a biomassa microbiana em Latossolo Amarelo da Amazônia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 9, n. 1, p. 1-4, 1985.

CERRI, C. E. P., et al. Tropical agriculture and global warming impacts and mitigation option. **Scientia Agricola, Piracicaba**, v. 64, n. 1, p. 83-99, 2007.

CHAER, G.M. **Modelo para determinação de índice de qualidade do solo baseado em indicadores físicos, químicos e microbiológicos**. (Dissertação de Mestrado) Viçosa/Departamento de Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, 100p. 2001.

\_\_\_\_\_. **Monitoramento de áreas recuperadas ou em recuperação**. In: TAVARES, Sílvio Roberto de Lucena et al. *Curso de recuperação de áreas degradadas: a visão da ciência do solo no contexto do diagnóstico, manejo, indicadores de monitoramento e estratégias de recuperação: dados eletrônicos*. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2008. 228p.

CHAER, G.M., et al. Shifts in microbial community composition and physiological profiles across a gradient of induced soil degradation. **Soil Science Society of America Journal**, v.73, p.1327 – 1334. 2009.

CHAER, G. M.; TÓTOLA, M. R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1381-1396, 2007.

CHEN, M.M., et al. Effects of soil moisture and plant interactions on the soil microbial community structure. **European Journal of Soil Biology**. v.43, p.31-38, 2007.

COPLEY, J. Ecology goes underground. **Nature**, vol. 406, p. 452-454, 2000.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Avaliação da safra agrícola de cana-de-açúcar 2010/2011: Terceiro levantamento – Dezembro de 2010**. Brasília: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2010, 12 p.

\_\_\_\_\_. **Avaliação da safra agrícola de cana-de-açúcar 2010/2011: Terceiro levantamento – Dezembro de 2011**. Brasília: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2011, 20 p.

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**, v.26, p.925-930, 2002.

COSTA, E.S.; LUIZÃO, R.C.; LUIZÃO, F.J. Soil microbial biomass and organic carbon in reforested sites degraded by bauxite mining in the Amazon. **Advances in Geoecology.**, v. 31, p. 443- 450, 1998.

CRECCHIO, C., et al. Functional and molecular responses of soil microbial communities under differing soil management practices. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.36, n. 11, p. 1873– 1883, 2004.

CUNHA, C. D. “**Avaliação da Biodegradação de Gasolina em Solo**”. (Dissertação Mestrado) Rio de Janeiro, Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 97p.1996.

D'ANDREA, A. F. D, et al. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 913-923, 2002.

DAVID, M.B.; MITCHELL, M.J.; NAKAS, J.P. Organic and inorganic sulfur constituents of a forest soil and their relationship to microbial activity. **Soil Science Society of America**, v. 46, p. 847-852, 1982.

DIAS L.E.; GRIFFITH, J.J. **Conceituação e caracterização de áreas degradadas**. In: DIAS, L.E.; MELLO, J.W.V. Recuperação de áreas degradadas. Viçosa: UFV, p.1-7. 1998.

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. Soil Science Society of America v.35, p.107 – 124, 1994.

\_\_\_\_\_. **Soil enzymes activities as integrative indicator of soil health**. In: PANKHURST C.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R. (Org) Biological indicators of soil health. New York: CAB, p. 121-155, 1992.

DINIZ, B.P.C. O Grande Cerrado do Brasil Central: geopolítica e economia. São Paulo, 2006. Tese (Doutorado) - Faculdade de Filosofia, Letras e ciências humanas, Universidade de São Paulo, 2006.

DOMINY, C. S., HAYNES, R. J.; VAN ANTWERPEN, R. Loss of soil organic matter and related soil properties under long-term sugarcane production on two contrasting soils. **Biol. Fertil. Soils**, v. 36, p. 350–356, 2002.

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, p.107-124, 1994.

DORAN, J. W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M. A. Soil health and sustainability. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 56, p. 2-54, 1996.

DORAN, J.W.; ZEISSL, M.R. Soil health and sustainability: Managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology**, v. 15, p. 3-11, 2000.

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

EHLERS, E. **Agricultura sustentável: origens e perspectivas de um novo paradigma.** São Paulo, Livros da Terra Editora, 1996, 178p.

EKELUND, F., RØNN, R., CHRISTENSEN, S. Distribution with depth of protozoa, bacteria and fungi in soil profiles from three Danish forest sites. **Soil Biology & Biochemistry**, v.33, p.475–481, 2001.

EMBRAPA; Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Rio de Janeiro - RJ, **Manual de métodos de análises de solo.** 2 ed. rev. atual. 212 p. 1997.

ENGEL, V.L.; PARROTA, J.A. **Definindo a restauração ecológica: tendências e perspectivas mundiais.** In Restauração ecológica de ecossistemas naturais. In: P. KAGEYAMA; R.E. OLIVEIRA; L.F.D. MORAES; F.B. GANDARA (eds.). Restauração ecológica de ecossistemas naturais. Botucatu, Fundação de Estudos e Pesquisa Agrícolas e Florestais (FEPAF), 2003.

ESTEVAM, R. F. H. **Uso de atributos físicos, químicos, biológicos e bioquímicos para a indicação e predição de degradação em solo de Tabuleiro Costeiro.** (Dissertação de mestrado) Cruz das Almas, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 62p. 2011.

FAEG- Federação da Agricultura e Pecuária de Goiás. **Posicionamentos e Recomendações do Sistema Sindical Rural referentes à Expansão da Cultura da Canade- açúcar em Goiás:** Bases para Discussão. Goiânia: FAEG/SENAR, 2007. 35p.

FAUSTO, B. **História do Brasil**. 12. ed. São Paulo: EDUSP, 2006.

FELFILI, J. M et al. **Recuperação de matas de galeria**. Brasília: Embrapa Cerrados/MMA. Documento nº 21, 45p. 2000.

FELFILI, J. M.; FAGG, C. W.; PINTO, J. R.R. **Modelo nativas do bioma stepping stones na formação de corredores ecológicos, pela recuperação de áreas degradadas no cerrado**. In: Arruda, M. B. (Org.). Gestão Integrada de Ecossistemas Aplicada à Corredores Ecológicos. Brasília, 2005. p. 187-209.

FERREIRA, E. A. B., et al. Dinâmica do carbono da biomassa microbiana em cinco épocas do ano em diferentes sistemas de manejo do solo no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, n.6, p.1625-1635, 2007.

FIALHO, J. S., et al. Indicadores da qualidade do solo em áreas sob vegetação natural e cultivo de bananeiras na Chapada do Apodi-CE. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, p. 250-257, 2006.

FLIEßBACH, A.; MÄDER, P. **Carbon source utilization by microbial communities in soils under organic and conventional farming practice**. In: INSAN, H.; RANGGER, A., ed. Microbial Communities – Functional vesus structural approaches. Berlin: Springer-Verlag, 1997. p. 109-120.

FONSECA, M.G.D, et al. **Biologia Vegetal e Produtos Afins**. In: Silveira, J.M.F.J Da, Dal Poz, M.E; Assad, A. (Eds.) Biologia e Recursos Genéticos: Desafios e Oportunidades para o Brasil. Campinas: FINEP/ Instituto de Economia da Unicamp, 1<sup>a</sup> ed, 2004.

FRANCO, A. A., et al. **Revegetação de solos degradados**. Seropédica, RJ, EMBRAPA-CNPAB, Comunicado técnico 1992. 11p. 9.

FRANZLUEBBERS, A. J. Potential C and N mineralization and microbial biomass from intact and increasingly disturbed soils of varying texture. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 8, p. 1083-1090, 1999.

FRASER, D.G., et al. Soil microbial populations and activities under conventional and organic management. **Journal of Environmental Quality**, v.17, p.585-590, 1988.

FURLANI NETO, V.L.; RIPOLI, T.C.; VILA NOVA, N.A. Biomassa de cana-de-açúcar: energia contida no palhço remanescente de colheita mecânica. **Stab-Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.15, p.24-27, 1997.

GALDOS, M.V., CERRI, C.C., CERRI, C.E.P. Soil carbon stocks under burned and unburned sugarcane in Brazil. **Geoderma**, v.153, p. 347-352, 2009.

GAMA-RODRIGUES, E.F., et al. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, p. 393-901, 2005.

GAMA-RODRIGUES, E. F.; GAMA-RODRIGUES, A.C. E FRANCO, A. A. Atributos químicos e microbianos de solos sob diferentes coberturas vegetais no norte do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v.32, p.1521-1530, 2008.

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**, v.57, p.2351 - 2359, 1991.

GATIBONI, L.C., et al. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatases acidas durante a diminuição do fósforo disponível no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, 43:1085-1091, 2008.

GEISSELER, D., HORWATH, W. R. Short-term dynamics of soil carbon, microbial biomass, and soil enzyme activities as compared to longer-term effects of tillage in irrigated row crops. **Biology and Fertility of Soils**, v. 46, p. 65-72, 2009.

GIAI, C.; BOERNER, R.E.J. Effects of ecological restoration on microbial activity, microbial functional diversity, and soil organic matter in mixed-oak forests of southern Ohio, USA. **Applied Soil Ecology**, v.35, p.281–290, 2007.

GIRVAN, M.S., et al. **Responses of Active Bacterial and Fungal Communities in Soils Under Winter Wheat to Different Fertilizer and Pesticide Regimens.** Applied and Environmental Microbiology. Vol. 70, n 5, p. 2692- 2701, 2004.

GLOVER, J.D.; REGANOLD, J.P.; ANDREWS, P.K. Systematic method for rating soil quality of conventional, organic, and integrated apple orchards in Washington State. Agric. **Ecosystems and Environment**., v.80, p.29-45, 2000.

GODFRAY, H.C.J., et al. Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. **Science**, v. 327, p.812-818, 2010.

GOMEZ, E.; FERRERAS, L.; TORESANI, S.; Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. **Bioresource Technology**, v.97, p.1484 - 1489, 2006.

GONÇALVES, N. H. Manejo do solo para implantação da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. de S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. de. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba, Cap. 2, 2006. 415 p.

GRAHAM, M. H., HAYNES, R. J. Organic matter status and the size, activity and metabolic diversity of the soil microflora as indicators of the success of rehabilitation of mined sand dunes. **Biology and Fertility of Soils**, v.39, p.429–437, 2004.

\_\_\_\_\_. Organic matter accumulation and fertilizer induced acidification interact to affect soil microbial and enzyme activity on a long-term sugarcane management experiment. **Biology and Fertility of Soils**, v. 41, p. 249–256, 2005.

\_\_\_\_\_. Catabolic diversity of soil microbial communities under sugarcane and other land uses estimated by Biolog and substrate-induced respiration methods. **Applied Soil Ecology**. v. 29, p. 155-164, 2005.

GRAHAM, M. H, HAYNES, R. J; VAN ANTWERPEN, R. Size and activity of the soil microbial biomass in the row and inter-row of a sugarcane field under burning and green cane harvesting. **South African Sugar Technologists Association**, v. 76, p. 186-195. 2002.

GREEN, V.S., et al. Tillage impacts on soil biological activity and aggregation in a Brazilian Cerrado Oxisol. **Soil and Tillage Research**, v.92, p.114-121, 2007.

GUANAPALA, N., SCOW, K.M. 1998. Dynamics of soil microbial biomass and activity in conventional and organic farming systems. **Soil Biology and Biochemistry**, 30, 805-816, 1998.

HEILMANN, B.; LEBUHN, M. E; BEESE, F. Methods for investigation of metabolic activity and shifts in the microbial community in soil treated with a fungicide. **Biology and Fertility of Soils**. vol 19, p. 186-192, 1995.

HERMAN, W.A.; MCGILL, W.B.; DORMAAR, J.F. Effects of initial chemical composition on decomposition of roots of three grass species. **Journal Soil Science**, v. 57, p. 205-215, 1977.

HERMANSSON, A.; LINDGREN, P.; Quantification of Ammonia-Oxidizing Bacteria in Arable Soil by Real Time PCR. **Applied and Environmental Microbiology**. v.67, p.972-976, 2001.

HEUER, H.; SMALLA, K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) for studying soil microbial communities. In: ELSAS, J.D. van; TREVORS, J.T.; WELLINGTON, E.M.H. (Ed.). **Modern soil microbiology**. New York: Marcel Dekker, p.353-373, 1997.

HOLT, J. A.; MAYER, R. J. Changes in microbial biomass and protease activities of soil associated with long-term sugar cane monoculture. **Biology and Fertility of Soils**, v.27, p.127–131, 1998.

HUNGRIA, M., et al. Soil microbial activity and crop sustainability in a longterm experiment with three soil-tillage and two croprotation systems. **Applied Soil Ecology**, v.42, p.288-296, 2009.

IBGE. **Produção agrícola municipal (2009)**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> . Acesso em: 14 jul. 2012

INSAM, H.; DOMSCH, K. H. Relationship between soil organic carbon and microbial biomass on chronosequences of reclamation sites. **Microbial Ecology**, v. 15, n. 4, p. 177-188, 1988.

ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 79, n. 1, p. 9-16, 2000.

JACKSON, M. L. **Análisis Químico de Suelos**. 2<sup>a</sup> ed. MARTINEZ, J.B. (Ed.) Trad. Barcelona, Ed. Omega S.A., 1970, 662 p.

JOERGENSEN, R.G. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: Calibration of the kec value. **Soil Biology & Biochemistry**, 28:25-31, 1995.

KAGEYAMA, P.Y.; GANDARA, F.B. **Recuperação de áreas ciliares. In Matas ciliares: conservação e recuperação.** (eds R.R. RODRIGUES & H.F. LEITÃO-FILHO). Editora Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

KAGEYAMA, P. Y; GANDARA, F. B.; OLIVEIRA, R. E. Biodiversidade e restauração da Floresta Tropical. In: KAGEYAMA, P. Y., OLIVEIRA, R. E., MORAES, L. F. D., ENGEL, V. L. & GANDARA, F. B. (Ed.) **Restauração ecológica de ecossistemas naturais.** Botucatu, FEPAF, 2003. p. 27-48.

KANDELER, E., TSCHERKO, D., SPIEGEL, H. Long term monitoring of microbial biomass, N mineralization and enzyme activities of a Chernozem under different tillage management. **Biology and Fertility of Soils**, v. 28, p. 343–351, 1999.

KASCHUK, G., ALBERTON, O., HUNGRIA, M. Quantifying effects of different agricultural land uses on soil microbial biomass and activity in Brazilian biomes: inferences to improve soil quality. **Plant Soil**, v.338, p. 467–481, 2011.

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

KENNEDY, A.C.; PAPENDICK, R.I. Microbial characteristics of soil quality. **Journal of soil and water conservation**, v.50, p.243-248, 1995.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the brazilian Cerrado. **Conservation Biology**. v.19, n.3, p.707-713, 2005.

KLOSE, S.; TABATABAI, M.A. Urease activity of microbial biomass in soils as effected by cropping systems. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.31, n.3-4, p.191-199, 2000.

KONOPKA, A.; OLIVER, L.; TURCO, R.F. The use of substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology. **Microbial Ecology**, v.35, p.103-115, 1998.

KNOEPP, J.D., et al. Biological indices of soil quality: An ecosystem case study of their use. For. **Ecol. Manag.**, 138:357-368, 2000.

KUPERMAN, R. G.; CARREIRO, M. M. Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 179-190, 1997.

LAL, R. Soil carbon dynamic in cropland and rangeland. **Environmental Pollution**, Massachusetts, v. 116, p. 353-362, 2002.

LARSON, W.E.; PIERCE, F.J. **The dynamics of soil quality as a measure of sustainable management**. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F. & STEWART, B.A., eds. Defining soil quality for a sustainable environment. Madison, Soil Science Society of American, p.37-52, 1994. (Special Publication, 35).

LAVAHUN, M.F.E.; JOERGENSEN, R.G.; MEYER, B. Activity and biomass of soil microorganisms at different depths. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 23, p. 38-42, 1996.

LECKIE, S.E. Methods of microbial community profiling and their application to forest soils. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 220, p. 88-106, 2005.

LEITE, G.F. Avaliação econômica da adubação com vinhaça e da adubação mineral de soqueiras de cana-de-açúcar na Usina Monte Alegre Ltda. – Monte Belo-MG. **Revista da Universidade de Alfenas**, Alfenas, v. 5, p.189- 181, 1999.

LIMA, D. A. L. L. **Estrutura e expansão da agroindústria canavieira e seus impactos no uso da terra na região Sudoeste de Goiás**. Campinas, 2010. 200p. Tese (Doutorado em Economia) Instituto de Economia, Unicamp.

LOBATO, E. **Celeiro do mundo: vocação ou maldição?** Rede Cerrado, Mar 2008. Disponível em: <[http://www.redecerrado.org.br/index.php?option=com\\_content&view=article&catid=3%3Acurtas&id=161%3Aceleiro-do-mundo-vocacao -ou-maldicao & Itemid=48](http://www.redecerrado.org.br/index.php?option=com_content&view=article&catid=3%3Acurtas&id=161%3Aceleiro-do-mundo-vocacao -ou-maldicao & Itemid=48)>. Acesso em: 11 nov. 2011.

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

LOVELL, C.R., et al. Molecular Analysis of diazotroph diversity in the rizosphere of the smooth cordgrass, *Spartina alterniflora*. **Applied & Environmental Microbiology**, v.66, p.3814 - 3822, 2000.

MACEDO, I. C.; SEABRA, J. E. A.; SILVA, J. E. A. R. Green house gases emissions in the production and use of ethanol from sugarcane in Brazil: The 2005/2006 averages and a prediction for 2020. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 32, p. 582-595, 2008.

MACEDO, I.C. A Energia da Cana-de-açúcar – **Doze estudos sobre a agroindústria da cana-de-açúcar no Brasil e a sua sustentabilidade**. Berlendis & Vertecchia. São Paulo: SP. Unica– União da Agroindústria Canavieira de São Paulo, 2007. 231p.

MÄDER, P., et al. Soil fertility and biodiversity in organic farming. **Science**, London, v. 296, p. 1694-1697, 2002.

MAGURRAN, E.E. **Ecological diversity and its measurement**. New Jersey: Princeton 12 University Press, 1988. 177 p.

MALUCHE-BARETTA, C. R. D. **Diversidade microbiana em solos sob florestas de Araucaria angustifolia**. 2007. Tese (Doutorado em Agronomia) Escola Superior de Agricultura de Luiz de Queiroz, Piracicaba, 184p., 2007.

MALUCHE-BARETTA, C.R.D., KLAUBERG-FILHO, O., AMARANTE, C.V.T., RIBEIRO, G.M., ALMEIDA, D. Atributos microbianos e químicos do solo em sistemas de produção convencional e orgânico de maçãs no estado de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 655–665, 2007.

MAKOI, J. H. J. R.; NDAKIDEMI, P. A. Selected soil enzymes: examples of theirs potential roles in the ecosystem. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 3, p. 181-191, 2008.

MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO), Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Disponível em <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=5114>. Consultado em 23 de maio de 2012.

MANZATTO, C. V. (Org.) et al. **Zoneamento agroecológico da cana-de-açúcar**. Embrapa Solos -Rio de Janeiro-RJ, 55p. 2009 (Documentos).

MARIN, F. R. **Cana-de-açúcar**. Características. Brasília: Agência de Informação Embrapa, 2007. Disponível em: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01\\_20\\_3112006152934.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_20_3112006152934.html). Acesso em: 11 jul. 2011.

MARTINS, C.M., et al. Atributos químicos e microbianos do solo de áreas em processo de desertificação no semiárido de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** v.34, p.1883-1890, 2010.

MATSUOKA, M.; MENDES, I.C.; LOUREIRO, M.F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste- MT. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 425-433, 2003.

MATSUOKA, S., et al. Comportamento de variedades de cana-de-açúcar em um sistema orgânico de produção. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 8., 2002, Recife. **Anais...** Recife: [s.n.], 2002. p. 301-308.

MCCUNE, B.; GRACE J. B. Analysis of ecological communities. **MjM Software Design**, Gleneden Beach, OR. 2002.

MCCUNE, B.; MEFFORD, M. J. PC-ORD multivariate analysis of ecological data, 40th edn. **MjM Software Design**, Gleneden Beach, OR, USA. 1999.

MCGARRY, D., et al. **Is cane damaging the soil? A comparison of a ten-year old block with the adjoining treeline**. In “Proceedings of the 1996 Conference of the Australian Society of Sugarcane Technologists” (B. T. Egan, Ed.), p. 189–194, Mackay, 1996.

MELERO, S., et al. Chemical and biochemical properties in a silty loam soil under conventional and organic management. **Soil & Tillage Research.**,90:162-170, 2005.

MELLONI, R., et al. E. Impacto de resíduo de siderurgia na microbiota do solo e no crescimento de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 24, n. 3, p. 309-315, 2000.

MENDES, I. C, et al. Biological functioning of Brazilian Cerrado soils under different vegetation types. **Plant and Soil.** v. 350, p. 1-13, 2012.

MENDES, I. C., et al. **Bioindicadores para Avaliação da Qualidade dos Solos Tropicais: utopia ou realidade?** Documentos Embrapa Cerrados, Planaltina. 2009. 31p.

MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B. **Microrganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos solos: uma análise crítica.** Embrapa Cerrados – Planaltina –DF, 26p. 2004 (Documentos, 85).

MENDES, I. C., et al. Propriedades biológicas em agregados de um LE sob plantio convencional e direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 435-443, 2003.

MENDES, I.C.; VIVALDI, L.A. **Dinâmica da biomassa e atividade microbiana em uma área sob mata de galeria na região do Distrito Federal.** In: RIBEIRO, J.F.; FONSECA, C.E.L.; SOUZA-SILVA, J.C. (Eds). Cerrado: caracterização e recuperação de matas de galeria. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 665-687, 2001.

MENDONZA, H.N.S., et al. Propriedades químicas e biológicas de solo de tabuleiro cultivado com cana-de-açúcar com e sem queima da palhada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 201- 207, 2000.

MENDONÇA, R. C., et al. Flora Vascular do Bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. (Org.) **Cerrado: ecologia e flora.** Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 2008. v. 2, p. 213-228.

MERCANTE, F. M., et al. Biomassa microbiana, em um Argissolo Vermelho, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 34, n. 4, p. 479-485, 2008.

MILLER, M.; DICK, R.P. Thermal stability and activities of soil enzymes influenced by crop rotations. **Soil Biology and Biochemistry**. v.27, p.1161–1166, 1995.

MORAIS, M. **Diversidade bacteriana do solo sob o cultivo de cana-de-açúcar.** Piracicaba, 2008. 88f. Tese (Doutorado em Agronomia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008

MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. Dinâmica da matéria orgânica e da biomassa microbiana em solo submetido a diferentes sistemas de manejo na Amazônia Ocidental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 1103-1110, 2004.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo.** Lavras: UFLA, 2006. 729p.

MONTGOMERY, D.R. Soil erosion and agricultural sustainability. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.104, p.13268-13272, 2007.

MOZAMBAKI, A. E., et al. História emorfologia da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. de S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. de. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba, Cap, 2, 415 p. 2006.

MUYZER, G. DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 2, p. 317-322, 1999.

MYERS, N., et al. Biodiversity hotspots for conservantion priorites. **Nature**, n. 403, p. 853-858, 2000.

NAHAS, E.; DELFINO, J. H.; ASSIS, L. C. Atividade microbiana e propriedades bioquímicas do solo resultantes da aplicação de gesso agrícola na cultura do repolho. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 54, p. 160-166, 1997.

NAKATSU, C. H. Soil microbial community analysis using denaturing gradient gel electrophoresis. **Molecular-Based Approaches to Soil Microbiology symposium**, v. 71, n. 2, p. 562-571, 2007.

NANNIPIERI, P., et al. Microbial diversity and soil functions. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 54, p. 655-670, 2003.

NANNIPIERI, P.; KANDELER, E.; RUGGIERO, P. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In: Burns, R.G.; Dick, R.P. (Ed.). **Enzyme in the Environment**. New York: Marcel Dekker, 2002. chap. 1, p. 1-33.

NARDOTO, G. B E BUSTAMANTE, M. M DA C. Effects of fire on soil nitrogen dynamics and microbial biomass in savannas of Central Brazil, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasilia, v.38, n.8, p.955-962, 2003.

NAYAK, D.R.; BABU, Y.J.; ADHYA, T.K. Long-term application of compost influences microbial biomass and enzyme activities in a tropical Aeric Endoaquept planted to rice under flooded condition. **Soil Biology and Biochemistry**, v.39, p.1897-1906, 2007.

NEAL, J.L.; LARSON, R.I.; ATKINSON, T.G. Changes in rhizosphere populations of selected physiological groups of bacteria related to substitution of specific pairs of chromosomes in spring wheat. **Plant Soil**, v. 39, p. 209-212, 1973.

NELSON, D.W.; SOMMERS, L.E. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H. & KEENEY, D.R., eds. Methods of soil analysis: Chemical and microbiological properties. Part 2. Madison, **Soil Science Society of America**, p.539-579. 1982.

NGUGI, M.R., JOHNSON, R.W; MCDONALD, W.J.F. Restoration of ecosystems for biodiversity and carbon sequestration: Simulating growth dynamics of brigalow vegetation communities in Austrália. **Ecological Modelling**. v.222, p. 785-794, 2011.

NELSON, D.W.; SOMMERS, L.E. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H. & KEENEY, D.R., eds. Methods of soil analysis: Chemical and microbiological properties. Part 2. Madison, **Soil Science Society of America**, p.539-579. 1982.

NOGUEIRA JR., L. R. **Caracterização de solos degradados pela atividade agrícola e alterações biológicas após reflorestamentos com diferentes associações de espécies da Mata Atlântica**. Piracicaba, 2000. Dissertação (Mestrado em Ciências), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2000.

NUNES JUNIOR, D. Torta de filtro: de resíduo a produto nobre. **Revista Idea News**, ano 8, n. 92, p. 22-30, Jun, 2008.

NUNES, J. S., et al. Impact of Land Degradation on Soil Microbial Biomass and Activity in Northeast Brazil. **Pedosphere**, v.22, p.88–95, 2012

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; MEDEIROS, F. N. S. **Ocupação humana e preservação do ambiente: um paradoxo para o desenvolvimento sustentável**. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Cerrado: desafios e oportunidades para o desenvolvimento sustentável. Planaltina: Embrapa, 2008.

OLIVEIRA, M. D. **Sugarcane and ethanol production and carbon dioxide balances**. In: PIMENTEL, D. (Ed.). Biofuels, solar and wind as renewable energy systems - benefits and risks. Heidelberg: Springer, 2008. cap. 9, p. 215-230.

OLIVEIRA, P. P. A., et al. Liming and fertilization for restoring degraded Brachiaria decumbens pasture on sandy soil. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 1, p. 125-131, 2003.

OLIVEIRA, R.R.; LACERDA, L.D. Produção e composição química da serrapilheira na floresta da Tijuca (RJ). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.16, p.93-99, 1993.

OLIVEIRA, T. A. de, et al. Efeito da interação do Nicosulfuron e Chlorpyrifos sobre o banco de sementes e os atributos microbianos do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 563-570, 2009.

PALMER, M.A.; AMBROSE, R.F.; POFF, N.L. Ecological theory and community restoration. **Restoration Ecology**, v. 5, p.291-300, 1997.

PASCHOAL, A.D. **Produção orgânica de alimentos: agricultura sustentável para os séculos XX e XXI**. São Paulo: Globo, 1994. 191p.

PASSOS, S. R. et al. Atividade enzimática e perfil da comunidade bacteriana em solo submetido à solarização e biofumigação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 43, n. 7, p. 879-885, 2008.

PEIXOTO, R. S.. et al. 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, p.403 – 413. 2010.

PEIXOTO, R.S., et al. Soil aggregation and bacterial community structure as affected by tillage and cover cropping in the Brazilian Cerrados. **Soil & Tillage Research**, v.90, p.16-28, 2006.

PEIXOTO, R. T. dos G. Compostagem: Princípios, práticas e perspectivas em sistemas orgânicos de produção. In: AQUINO, A. M. de; ASSIS, R. L. de. **Agroecologia: Princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável**. Brasília – DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 517p.

PEREZ, K.S.S; RAMOS, M.L.G.; MCMANUS, C.; Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.6, p.567-573, jun. 2004.

PESSÔA, V. L. S. **Ação do estado e as transformações agrárias no cerrado das zonas de Paracatu e Alto Paranaíba –MG**. 1988. 238 f. Tese (Doutorado em Geografia) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

PINHEIRO, E. F. M., et al. **Estoques de carbono e nitrogênio num Argissolo Amarelo cultivado com cana-de-açúcar**: influência da queima ou manutenção da palhada. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento – Embrapa Agrobiologia, Seropédica, v. 17, p. 4-21, 2007.

PINTO, C. R. O; NAHAS, E. Atividade e população microbiana envolvida nas transformações do enxofre em solos com diferentes vegetações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 12, p. 1751-1756, 2002.

PITELLI, M. M.; VIAN, C. E. de F. **O Processo Recente de Formação dos Campos Organizacionais da Carne Bovina e Açúcar Orgânicos**: Análise Preliminar e perspectivas. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 43, Ribeirão Preto, Anais... Brasília, 2005.

PRESTON-MAFHAM, J.; BODDY, L.; RANDERSON, P.F. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles - a critique. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 42, n. 1, p. 1-14, 2002.

QUIRINO, B. F., et al. Molecular phylogenetic diversity of bacteria associated with soil of the savanna-like Cerrado vegetation. **Microbiological Research**. Vol. 164, p. 59-70, 2009.

RAHN, C.R.; LILLYWHITE, R.D. A study of the quality factors affecting the short – term decomposition of field vegetable residues. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 19-26, 2001.

RAPASSI, R.M.A. **Avaliação técnica e econômica de sistemas de produção da cana-deaçúcar (Saccharum spp) convencional e orgânica na região oeste do Estado de São Paulo**. 2008. 146f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, 2008

RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, J. F. Analysis of the floristic composition of the Brasilian Cerrado vegetation. III: comparison of the woody vegetation of 376 areas. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 60, p. 57-109, 2003.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**. v.80, p. 223-230, 1997.

REGANOLD, J.P. et al. Systematic method for rating soil quality of conventional, organic, and integrated apple orchards in Washington State. **Agriculture Ecosystem Environment**, v.80, p.29-45, 2000.

REIS JR., F.B.; MENDES, I.C.; **Biomassa Microbiana do Solo**. Planaltina- DF. Embrapa Cerrados, 2007. 40p. (Documentos, 205).

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. **Fitofisionomias do bioma Cerrado**. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de. (ed). Cerrado: ambiente e flora. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, p. 89-166, 1998.

RIBEIRO, N. V., et al. **Expansão do Setor Sucroalcooleiro no Cerrado Goiano: Cenários Possíveis e Desejados**. In: Anais do IX Simpósio Nacional do Cerrado e II Simpósio Internacional de Savanas Tropicais. Brasília: Embrapa, 2008.

RICCI, R. (Coord.). **Mercado de trabalho do setor sucroalcooleiro no Brasil**. Brasília: IPEA, 1994 (Estudos de Políticas Agrícolas, 15).

ROBERTSON, F.A.; MYERS, R.J.K.; SAFFIGNA, P.G. Carbon and nitrogen mineralization in cultivated and grassland soils of subtropical. **Queensland Australian Journal of Soil Research**, Brisbane, v.31, p.611-619, 1993.

RODRIGUES, R.R.; GANDOLFI, S. **Conceitos, tendências e ações para a recuperação de florestas ciliares**. p. 235-247. In: R.R. RODRIGUES; H.F. LEITÃO-FILHO (eds.). Matas ciliares: conservação e recuperação. São Paulo, Universidade de São Paulo, 2000.

ROESCH, L.F.W., et al. Pyrosequencing enumerates and constrasts soil microbial diversity. **The ISME Journal: Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology**, New York, v. 1, p. 283-290, 2007.

SAMPAIO, D. B.; ARAÚJO, A. S. F.; SANTOS, V. B. Avaliação de indicadores biológicos de qualidade do solo sob sistemas de cultivo convencional e orgânico de frutas. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 353-359, 2008.

SANO, E.E, et al. Land cover mapping of the tropical savanna region in Brazil. **Environ Monit Assess**, v. 166, p. 11–124, 2009.

SANO, E. E., et al. **Mapeamento de Cobertura Vegetal do Bioma Cerrado: estratégias e resultado**. Embrapa Cerrados. Planaltina-DF. 2007. 33p. (Documentos, 190)

SANTANA, D.F.; BAHIA-FILHO, A.F.C. **Indicadores de qualidade do solo**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIAS DO SOLO, 28, Resumos expandidos... Rio de Janeiro: SBCS, 1999.

SANT'ANNA, S. A. C., et al. Evaluation of Soil Quality Indicators in Sugarcane Management in Sandy Loam Soil. **Pedosphere**, v.19, p. 312-32, 2009.

SANTOS, D.C.F., et al. Microbial and soil properties in restoration areas in the Jequitinhonha Valley, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** v.35, p.2199-2206, 2011.

SANTOS, V. B.; CASTILHOS, D. D.; CASTILHOS, R. M. V. et al. Biomassa, atividade microbiana e teores de carbono e nitrogênio totais de um planossolo sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, p. 333-338, 2004.

SCHWENKE, G.D., et al. Soil stripping and replacement for the rehabilitation of bauxite-mined land at Weipa. Soil organic matter dynamics in mine. **Australian Journal. Soil Res.**, 38:371-393, 2000.

SCOW, K.M., et al. Transition from conventional to low-input agriculture changes soil fertility and biology. **California Agriculture**, v.48, p. 20-26. 1994.

SEGATO, S. V., et al. M. de. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba, Cap. 2, 2006. 415 p.

SILVA, A. J. N.; CABEDA, M. S. V.; CARVALHO, F. G. Matéria orgânica e propriedades físicas de um Argissolo Amarelo Coeso sob sistemas de manejo com cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 3, p. 579-585, 2006.

SILVA, J.E.; LEMAINSKI, J.; RESCK, D.V.S. Perdas de matéria orgânica e suas relações com a capacidade de troca catiônica em solos da região de cerrados do oeste baiano. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.18, p.541-547, 1994.

SILVA, J. E., RESCK, D. V. S. Matéria orgânica do solo. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M., ed. **Biologia dos solos dos Cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997. 542p.

SILVA JÚNIOR, M. C. **100 Árvores do Cerrado**: guia de campo. Brasília, DF: Rede de Sementes do Cerrado, 2005. 278 p.

SILVA, L. G. **Uso e monitoramento de indicadores microbiológicos para avaliação da qualidade dos solos de cerrado sob diferentes agroecossistemas**. Brasília, 2008. 117f. Dissertação (Mestrado Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária), Universidade de Brasília, 2008.

SILVA, L. L. **Álcool e a nova ordem econômica mundial**: frente parlamentar sucroalcooleira. São Paulo: Segmento, 1996. p.60-63.

SILVA, M. A. S; GRIEBELER, N.P.; BORGES, L.C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.1, p.108–114, 2007.

SILVA, M.; SIQUEIRA, E.R.; COSTA, J.L.S. Hidrólise de diacetato de fluoresceína como bioindicador da atividade microbiológica de um solo submetido a reflorestamento. **Ciência. Rural**, v. 34, p.1493-1496, 2004.

SILVA, R. R., et al. Biomassa e atividade microbiana em solo sob diferentes sistemas de manejo na região fisiográfica Campos das Vertentes – MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34,p.1585-1592, 2010.

SILVEIRA, A.O; **Atividades enzimáticas como indicadores biológicos da qualidade de solos agrícolas do Rio Grande do Sul**. (Dissertação Mestrado), Porto Alegre, Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 94p. 2007.

SKUJINS, J. History of abiotic soil enzyme research. In: BURNS, R.G. (Ed.). **Soil Enzymes**. New York: Academic Press, 1978. chap. 1, p. 1–50.

SINGH, J.S., et al. Microbial biomass acts as source of plant nutrients in dry tropical forest and savanna. **Nature**, v.338, p. 499-500, 1989.

SMALLA, K., et al. Analysis of biological substrate utilization patterns by microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, p. 1220-1225, 1998.

SOARES, L. H. B., et al. **Mitigação das emissões de gases efeito estufa pelo uso de etanol da cana-de-açúcar produzido no Brasil**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009. 14 p. (Circular Técnica, 27).

SOKAL, R. R. Testing statistical significance of geographic variation patterns. **System Zool** v.28, p. 627-632 1979

SOUZA, L. M. **Atributos químicos, físicos e biológicos, estrutura de comunidades bacterianas e qualidade de solos de cerrado sob plantio direto e preparo convencional**. Brasília, 2011. 183 f. Dissertação (Mestrado Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária), Universidade de Brasília, 2011.

SOUZA, L. M., et al. Estrutura metabólica e genética de comunidades bacterianas em solo de cerrado sob diferentes manejos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, p. 269-276. 2012.

SOUZA, R. A., et al. Effects of sugarcane harvesting with burning on the chemical and microbiological properties of the soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 155, p. 1-6, 2012.

SOUZA, Z. M. Sistemas de colheita e manejo da palhada de cana-de-açúcar, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 3, p. 271-278, 2005.

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

SPAROVECK, G., et al. Aptidão da terras de Piracicaba para o corte mecanizado de cana-de-açúcar. **STAB**, Piracicaba, v. 15, n. 5, p. 14-17, 1997.

STADDON, W. J.; DUCHESNE, L. C.; TREVORS, J. T. Acid phosphatase, alkaline phosphatase and arylsulfatase activities in soils from a jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) ecosystem after clear-cutting, prescribed burning, and scarification. **Biology and Fertility of Soils**, v. 27, p. 1-4, 1998.

STARK, C.H.; CONDRON, L.M.; O'CALLAGHAN, M. Differences in soil enzyme activities, microbial community structure and short-term nitrogen mineralization resulting from farm management history and organic matter amendments. **Soil Biology and Biochemistry**, v.40, p.1352-1363, 2008.

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

STOTT, L., et al. Radiocarbon age anomaly at intermediate water depth in the Pacific Ocean during the last eglaciation. **Paleoceanography**, v.24, p-2223. 2009.

SZMRECÁNYI, T. Tecnologia e degradação ambiental: o caso da agroindústria canavieira no estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 24, n. 10, p. 73-81, 1994.

TABATABAI, M.A. **Soil Enzymes**. In: Weaver, R.W.; Scott, A.; Bottomeley, P.J., ed. Methods of soil analysis; microbiological and biochemical properties. Madison: Soil Science Society of America, Part. 2, p. 778-835, 1994. (Special Publication, 5).

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Arylsulfatase activity of soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 34, p. 225-229, 1970.

TAVARES, S. R. **Áreas Degradadas: Conceitos e Caracterização do Problema**. In: Curso de Recuperação de Áreas Degradadas Recuperação de Áreas Degradadas - Série Documentos 103, Balieiro, F. C.; Tavares, S. R. L. A (orgs). Visão da Ciência do Solo no Contexto do Diagnóstico, Manejo, Indicadores de monitoramento e Estratégias de Recuperação. 2008. 228p.

TAYLOR, J.P., et al. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.34, n.3, p 387-401, 2002.

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.

TRANNIN, I.C.B.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Características biológicas do solo indicadoras de qualidade após dois anos de aplicação de biossólido industrial e cultivo de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1173-1184, 2007.

TRASAR-CEPEDA, C., et al. Towards a biochemical quality index for soils: An expression relating several biological and biochemical properties. **Biology and Fertility of Soils**, v.26, p.100-106. 1998.

TRINDADE, A.V.; GRAZZIOTTI P. H.; TÓTOLA, M. R. Utilização de características microbiológicas na avaliação da degradação ou recuperação de uma área sob mineração de ferro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa**, v.24, p. 683-688, 2000.

TU, C., RISTAINO, J. B., HU, S. Soil microbial biomass and activity in organic tomato farming systems. Effects of organic inputs and straw mulching. **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v.38, p.247-255, 2006.

TURCO, R.F.; KENNEDY A.C.; JAWSON M. D. Microbial indicators of soil quality. In: Doran JW, Coleman DC, Bezdicek DF, Stewart BA (eds) Defining soil quality for a sustainable environment. Soil Science Society of America, Madison, p.107–124, 1994.

UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Relatório e Recomendações sobre Agricultura Orgânica**. Brasília: CNPQ, 1984. 128 p.

URIQUIAGA, S. et al. **Queima da cana-de-açúcar**. Rio de Janeiro: EMBRAPA Agrobiologia, 1998.

VALCARCEL, R; D`ALTÉRIO, C. F. Medidas físicobiológicas de recuperação de áreas degradadas: avaliação das modificações edáficas e fitossociológicas. **Floresta & Ambiente**, 5 : p.68 –88, 1998.

VALDES, C. Ethanol demand driving the expansion of Brazil's sugar industry. **Sugar Sweeteners Outlook**, p.31–38. 2007.

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

VARDAVAKIS, E. Seasonal fluctuations of aerobic cellulolytic bacteria, and cellulase and respiratory activities in a soil profile under a forest. **Plant and Soil**, v.115, p.145-150, 1989.

VARGAS, L. K.; SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de CO<sub>2</sub> e N mineral de um Podzólico Vermelho Escuro submetido a diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, n. 1, p. 35-42, 2000.

VEIGA, J. E. da. Biodiversidade e dinamismo econômico. 1999. Disponível em: [www.econ.fea.usp.br/zeeli/](http://www.econ.fea.usp.br/zeeli/). Acesso em 12 de jul. 2012.

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

WALTER, B. M. T; CARVALHO, A. M.; RIBEIRO, J. F. O **Conceito de Savanas e de seu Componente Cerrado**. In: SANO, Sueli. M; ALMEIDA, Semíramis. P; RIBEIRO, José. F. Cerrado Ecologia e Flora. Embrapa Cerrados. Brasília, DF, 2008.

WICK, B.; TIESSEN, H.; MENEZES, R. Land use changes following the conversion of the natural vegetation into silvo-pastoral systems in semi-arid NE Brazil. **Plant and Soil**, v.222, p.59-70, 1998.

WITTMANN C., et al. Areal activities and stratification of hydrolytic enzymes involved in the biochemical cycles of carbon, nitrogen, sulphur and phosphorus in podsolized boreal forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, p.425–433, 2004.

ZAK, J.C., et al. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, p. 1101-1108, 1994.

ZILLI, J. E. et al. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 20, n. 3, set./dez, p. 391-411, 2003.

ZAMBOLIM, L.; DO VALE, F.X.R.; COSTA, H. **Controle de doenças de plantas – hortaliças** Viçosa, v.1, p.1-4, 2000.

ZHONG, W.H., et al. The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity. **Plant and Soil**, v. 326, p. 511-522, 2010.

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. p. 10-35. (Special Publication 5).

YADAV, R. Soil organic carbon and soil microbial biomass as affected by restoration measures after 26 years of restoration in mined areas of Doon Valley. **International journal of environmental sciences** v.2, n.3, 2012.

YOUNG, T.P. Restoration ecology and conservation biology. **Biological Conservation**. v. 92, p.73-83, 2000.

YUSUF, A.A., et al. Rotation effects of grain legumes and fallow on maize yield, microbial biomass and chemical properties of an Alfisol in the Nigerian savanna. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.129, p.325–331, 2009.

**Anexo A- Relação das espécies de mudas utilizadas na recuperação das área de Paracatu-MG, com os respectivos nome popular e família.**

Nome científico	Nome popular	Família
<i>Matayba elaeagnoides</i>	Camboatá	Sapindaceae
<i>Copaifera langsdorffii</i>	P'óleo	Fabaceae
<i>Anadenanthera colubrina</i>	Angico vermelho	Fabaceae
<i>Eugenia dysenterica</i>	Cagaita	Myrtaceae
<i>Magonia pubescens</i>	Tinguí	Sapindaceae
<i>Plathymenia reticulata</i>	Vinhático	Leguminosae-Mimosoideae
<i>Astronium fraxinifolium</i>	Gonçalo	Anacardiaceae
<i>Genipa americana</i>	Jenipapo	Rubiaceae
<i>Anadenanthera peregrina</i>	Angico preto	Fabaceae
<i>Rhynchospora corymbosa</i>	Capituva	Cyperaceae
<i>Apeiba tibourbou</i>	Apeiba	Tiliaceae
<i>Terminalia argentea</i>	Capitão	Combretaceae
<i>Hymenaea courbaril</i>	Jatobá da Mata	Fabaceae
<i>Tabebuia aurea</i>	Ipê Amarelo	Bignoniaceae
<i>Dipterix alata</i>	Baru	Fabaceae
<i>Dimorphandra mollis</i>	Faveira	Fabaceae
<i>Kilmeyera marauensis</i>	Pau-santo	Guttiferae
<i>Chorisia speciosa</i>	Paineira	Bombacaceae
<i>Albizia polyccephala</i>	Albizia	Leguminosae-Mimosoideae
<i>Simarouba versicolor</i>	Mata Cachorro	Simaroubaceae
<i>Cedrela fissilis</i>	Cedro	Meliaceae
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Aroeira	Anacardiaceae
<i>Dalbergia brasiliensis</i>	Caroba	Leguminosae-Papilionoideae
<i>Luehea candidans</i>	Açoita Cavalo	Tiliaceae
<i>Croton salutaris</i>	Caixeta	Euphorbiaceae
<i>Cecropia hololeuca</i>	Embaúba	Cecropiaceae
<i>Amburana cearensis</i>	Amburana	Fabaceae
<i>Sterculia chicha</i>	Chichá	Sterculiaceae
<i>Guazuma ulmifolia</i>	Mutamba	Sterculiaceae

**Anexo B-** Relação das espécies de mudas utilizadas na recuperação na área do INMET, em Brasília-DF, com as respectivas famílias, nome popular e habitat (Cerrado sr = Cerrado sentido restrito).

Nome científico	Família	Nome popular	Hábitat
<i>Astronium fraxinifolium</i> Schott ex Spreng	Anacardiaceae	Gonçalo-alves	Cerrado sr <sup>(1,2)</sup>
<i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth	Fabaceae	Sucupira-preta	Campo Sujo <sup>(1)</sup> , Cerrado sr <sup>(1,2,3)</sup> e Mata Seca <sup>(3)</sup>
<i>Caryocar brasiliense</i> Cambess.	Caryocaraceae	Pequi	Campo Cerado <sup>(3)</sup> , Cerrado sr <sup>(1,3)</sup> e Cerradão <sup>(3)</sup>
<i>Dipterix alata</i> Vogel	Fabaceae	Baru	Campos <sup>(1)</sup> , Cerrado sr <sup>(1,3)</sup> , Cerradão <sup>(3)</sup> e Mata Seca <sup>(3)</sup>
<i>Eugenia dysenterica</i> DC	Myrtaceae	Cagaita	Campos <sup>(1)</sup> , Cerrado sr <sup>(1,3)</sup> e Cerradão <sup>(1,3)</sup>
<i>Hancornia speciosa</i> Gomes	Apocynaceae	Mangaba	Campo Sujo <sup>(3)</sup> , Campo Cerrado <sup>(3)</sup> , Cerrado sr <sup>(1,2,3)</sup> e Cerradão <sup>(1,3)</sup>
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart. ex Hayne	Fabaceae	Jatobá-do-cerrado	Campo Sujo <sup>(1,3)</sup> , Campo Cerrado <sup>(3)</sup> , Cerrado sr <sup>(1,2,3)</sup> e Cerradão <sup>(3)</sup>
<i>Solanum lycocarpum</i> A. St. Hil.	Solanaceae	Lobeira	Campos <sup>(3)</sup> , Cerrado sr <sup>(1,3)</sup> , Cerradão <sup>(3)</sup>
<i>Tabebuia aurea</i> (Manso) Benth. & Hook.f. ex S. Moore	Bignoniaceae	Ipê-amarelo	Cerrado sr <sup>(1,2,3)</sup> , Cerradão <sup>(3)</sup> e Mata de Galeria <sup>(3)</sup>
<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan	Fabaceae	Angico-vermelho	Mata de Galeria <sup>(1)</sup> e Mata Seca <sup>(1)</sup>
<i>Anadenanthera peregrina</i> (L.) Speg.	Fabaceae	Angico-preto	
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Fabaceae	Pau-d'óleo	Mata Ciliar <sup>(1)</sup> , Mata de Galeria <sup>(1)</sup> , Cerrado sr <sup>(1)</sup> e Cerradão <sup>(1)</sup>
<i>Genipa americana</i> L.	Rubiaceae	Jenipapo	Cerradão <sup>(1)</sup>
<i>Hymenaea courbaril</i> L. var. <i>stilbocarpa</i> (Hayne) Lee & Langenh.	Fabaceae	Jatobá-da-mata	Mata de Galeria <sup>(1)</sup>
<i>Inga cylindrica</i> (Vell.) Mart.	Fabaceae	Ingá	Mata Ciliar <sup>(1)</sup> , Mata de Galeria <sup>(1)</sup> , Mata seca <sup>(1)</sup>
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	Anacardiaceae	Aroeira	Mata Ciliar <sup>(1)</sup> , Mata seca <sup>(1)</sup> e Cerradão <sup>(1)</sup>
<i>Myroxylon peruferum</i> L. f.	Fabaceae	Bálsamo	Matas <sup>(1)</sup>
<i>Tibouchina stenocarpa</i> (DC.) Cogn.	Melastomataceae	Quaresmeira	Mata de Galeria <sup>(1)</sup>
<i>Ormosia stipularis</i> Ducke	Fabaceae	Tento	Mata de Galeria <sup>(1)</sup>

\* Fonte: <sup>1</sup>Mendonça et al. (1998); <sup>2</sup> Ratter, Bridgewater e Ribeiro (2003); <sup>3</sup>Silva Júnior (2005).

**Anexo C- Histórico das áreas amostradas conforme os sistemas de uso e manejo, no município de Goianésia – GO.**

<b>Sistema de manejo</b>	<b>Histórico</b>
CCQ	Área de 90 ha convertida à pastagem na década de 50, e posteriormente a lavoura de arroz. A área é cultivada com cana-de-açúcar desde 1984, na qual já foram realizados 24 cortes sendo 22 com queima. O atual canavial foi plantado em março de 2007, com a variedade IAC-SP-944004, e neste já foram realizados 4 cortes.
CSQ	Área de 729,13 ha convertida à pastagem na década de 50, e posteriormente a lavoura de arroz. A área é cultivada com cana-de-açúcar desde 1988, na qual já foram realizados 19 cortes sendo 16 com queima. O atual canavial foi plantado em fevereiro de 2005, com a variedade SP867515, e neste já foram realizado 6 cortes.
CO3	Área de 862,61 ha convertida à pastagem na década de 60, e posteriormente a lavoura de arroz. A área é cultivada com cana-de-açúcar desde 1996, na qual já foram realizados 16 cortes sendo 6 com queima. O atual canavial foi plantado em junho de 2006 com a variedade SP791011, sendo esta área convertida ao manejo orgânico em 2008, já foram realizados 4 cortes.
CO11	Área de 439,72 ha convertida à pastagem na década de 60, e posteriormente a lavoura de arroz. A área é cultivada com cana-de-açúcar desde 1987, na qual já foram realizados 22 cortes. O atual canavial foi plantado em setembro de 2001 com as variedades SP80-1816 e RB855113, sendo esta área convertida ao manejo orgânico em 2000, já foram já foram realizados 10 cortes.
Cerrado nativo	Remanescente de mata nativa de Floresta Estacional Semi-Decidual, com transição para Savana Florestada (Cerradão), sem qualquer exploração ou interferência antrópica. Denominada mata dos macacos, pois é grande a presença desses animais no local.

CCQ – cultivo convencional com queima; CSQ – cultivo convencional sem queima; CO3 – cultivo orgânico há 3 anos; CO11 – cultivo orgânico há 11 anos.

## Anexo D- Adubos e corretivos aplicados na área de cana com queima.

Produto	Descrição	Data da aplicação
MAP FOSFATO MONOAMONIO GR	Fertilizante	05/03/2007
REGENT 800WG	Inseticida	06/03/2007
MAP FOSFATO MONOAMONIO GR	Fertilizante	06/03/2007
SENCOR	Herbicida	17/03/2007
2,4D - DMA 806 /TENTO 867	Herbicida	17/03/2007
MAP FOSFATO MONOAMONIO GR	Fertilizante	21/03/2007
MAP FOSFATO MONOAMONIO GR	Fertilizante	21/03/2007
MAP FOSFATO MONOAMONIO GR	Fertilizante	28/03/2007
MAP FOSFATO MONOAMONIO GR	Fertilizante	28/03/2007
REGENT 800WG	Inseticida	03/04/2007
MAP FOSFATO MONOAMONIO GR	Fertilizante	09/04/2007
MAP FOSFATO MONOAMONIO GR	Fertilizante	09/04/2007
MAP FOSFATO MONOAMONIO GR	Fertilizante	09/04/2007
MAP FOSFATO MONOAMONIO GR	Fertilizante	09/04/2007
MAP FOSFATO MONOAMONIO GR	Fertilizante	16/04/2007
COMBINE 500-SC (SPIKE)	Herbicida	29/06/2007
PROVENCE	Herbicida	29/06/2007
EXTRAVON	Espalhante adesivo	31/01/2008
EXTRAVON	Espalhante adesivo	31/01/2008
HEXAZINONA + DIURON - VEL	Herbicida	31/01/2008
MSMA SANACHEM 720 CS BOMB	Herbicida	31/01/2008
DISCOVER	Herbicida	27/08/2008
GLIFOSATO - ROUNDUP/GLIZM	Herbicida	17/03/2009
DINAMIC	Herbicida	14/08/2009
REGENT 800WG	Inseticida	30/11/2009
ETHREL 720	Maturador	03/02/2010
EXTRAVON	Espalhante adesivo	03/02/2010
GAMIT STAR	Herbicida	20/01/2011
MSMA SANACHEM 720 CS BOMB	Herbicida	20/01/2011
AURORA 400 CE	Herbicida	20/01/2011
BROKER	Herbicida	20/01/2011
AURORA 400 CE	Herbicida	31/01/2011
GAMIT STAR	Herbicida	31/01/2011
BROKER	Herbicida	31/01/2011
ROUNDUP TRANSORB	Herbicida	11/02/2011
2,4D - DMA 806 /TENTO 867	Herbicida	11/02/2011
HEXAZINONA + DIURON - VEL	Herbicida	11/02/2011

## Anexo E- Adubos e corretivos aplicados na área de cana sem queima.

Produto	Descrição	Data da aplicação
ETHREL 720	Maturador	02/03/2007
EXTRAVON	Espalhante adesivo	02/03/2007
DINAMIC	Herbicida	02/10/2007
ETHREL 720	Maturador	16/02/2008
PLATEAU - BASF	Herbicida	31/07/2008
GESSO AGRICOLA	Fertilizante	26/08/2008
DISCOVER	Herbicida	28/08/2008
GESSO AGRICOLA	Fertilizante	19/09/2008
REGENT 800WG	Inseticida	29/09/2008
EXTRAVON	Espalhante adesivo	24/10/2008
HEXAZINONA + DIURON - VEL	Herbicida	24/10/2008
MSMA SANACHEM 720 CS BOMB	Herbicida	24/10/2008
SENCOR	Herbicida	12/11/2008
SENCOR	Herbicida	17/12/2008
2,4D - DMA 806 /TENTO 867	Herbicida	17/12/2008
2,4D - DMA 806 /TENTO 867	Herbicida	17/12/2008
MSMA SANACHEM 720 CS BOMB	Herbicida	17/12/2008
EXTRAVON	Herbicida	17/12/2008
ETHREL 720	Maturador	16/02/2009
EXTRAVON	Espalhante adesivo	27/02/2009
GLIFOSATO - ROUNDUP/GLIZM	Herbicida	20/03/2009
DINAMIC	Herbicida	03/07/2009
REGENT 800WG	Inseticida	07/08/2009
HEXAZINONA + DIURON - VEL	Herbicida	20/01/2010
EXTRAVON	Espalhante adesivo	20/01/2010
ETHREL 720	Maturador	03/02/2010
EXTRAVON	Espalhante adesivo	03/02/2010
HEXAZINONA + DIURON - VEL	Herbicida	08/02/2010
MSMA SANACHEM 720 CS BOMB	Herbicida	09/02/2010
MSMA SANACHEM 720 CS BOMB	Herbicida	09/02/2010
MSMA SANACHEM 720 CS BOMB	Herbicida	09/02/2010
DINAMIC	Herbicida	19/05/2010
MSMA SANACHEM 720 CS BOMB	Herbicida	10/06/2010
MSMA SANACHEM 720 CS BOMB	Herbicida	10/06/2010
HEXAZINONA + DIURON - VEL	Herbicida	15/06/2010
HEXAZINONA + DIURON - VEL	Herbicida	30/06/2010
MSMA SANACHEM 720 CS BOMB	Herbicida	30/06/2010
REGENT 800WG	Inseticida	09/08/2010
2,4D - DMA 806 /TENTO 867	Herbicida	11/11/2010
HEXAZINONA + DIURON - VEL	Herbicida	11/11/2010
MSMA SANACHEM 720 CS BOMB	Herbicida	11/11/2010
ACTARA	Inseticida	12/11/2010

## Anexo F- Adubos e corretivos aplicados na área de cana orgânica há 3 anos.

<b>Produto</b>	<b>Descrição</b>	<b>Data da aplicação</b>
ADUBO 04-28-20 + 0.4% ZN.	Fertilizante	10/07/2006
ADUBO 04-28-20 + 0.4% ZN.	Fertilizante	10/07/2006
ADUBO 04-28-20 + 0.4% ZN.	Fertilizante	10/07/2006
ADUBO 04-28-20 + 0.4% ZN.	Fertilizante	11/07/2006
ADUBO 04-28-20 + 0.4% ZN.	Fertilizante	13/07/2006
ADUBO 04-28-20 + 0.4% ZN.	Fertilizante	14/07/2006
REGENT 800WG	Inseticida	10/08/2006
SENCOR (HERBICIDA)	Herbicida	06/11/2006
2,4D - DMA 806 /TENTO 867	Herbicida	06/11/2006
GLIFOSATO - ROUNDUP/GLIZM	Herbicida	16/03/2007
CERTERO (INSETICIDA)	Inseticida	05/01/2008
EXTRAVON (ESPALHANTE ADES)	Espalhante adesivo	05/01/2008
GLIFOSATO - ROUNDUP/GLIZM	Herbicida	23/01/2008
PLATEAU - BASF	Herbicida	23/01/2008
GESO AGRICOLA	Fertilizante	17/05/2008
DINAMIC (HERBICIDA)	Herbicida	17/05/2008
COMBINE 500-SC (SPIKE)	Herbicida	17/05/2008
PROVENCE	Herbicida	17/05/2008
GLIFOSATO - ROUNDUP/GLIZM	Herbicida	31/07/2008
REGENT 800WG	Inseticida	11/08/2008
BENTONITA	Corretivo	16/09/2009

## Anexo G- Adubos e corretivos aplicados na área de cana orgânica há 11 anos.

<b>Produto</b>	<b>Descrição</b>	<b>Data da aplicação</b>
CALCARIO DOLOMITICO	Corretivo	18/10/2006
METARHIZIUM FORMULACAO AR	Inseticida Biológico	26/12/2006
GESO AGRICOLA	Corretivo	23/08/2007
METARHIZIUM FORMULACAO AR	Inseticida Biológico	06/02/2008
CALCARIO DOLOMITICO	Corretivo	18/10/2006
CALCARIO DOLOMITICO	Corretivo	18/10/2006
GESO AGRICOLA	Corretivo	31/07/2007