

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

DANILO DE ABREU ALVIM
LUCAS FERREIRA DIAS NOGUEIRA

**DETERMINAÇÃO DA BIOMASSA MICROBIANA COMO INDICADOR
DA QUALIDADE DO SOLO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

FRANCISCO BELTRÃO

2016

DANILO DE ABREU ALVIM
LUCAS FERREIRA DIAS NOGUEIRA

**DETERMINAÇÃO DA BIOMASSA MICROBIANA COMO INDICADOR
DA QUALIDADE DO SOLO**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado a disciplina de TCC2 do curso de Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof.^a Dr^a Claudia Eugênia Castro Bravo

Co-orientadora: Prof.^a Dr^a Ivane Benedetti Tonial

FRANCISCO BELTRÃO

2016



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Francisco Beltrão
Curso de Engenharia Ambiental

TERMO DE APROVAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso

**DETERMINAÇÃO DA BIOMASSA MICROBIANA COMO INDICADOR DA
QUALIDADE DO SOLO**

por

Danilo de Abreu Alvim e Lucas Ferreira Dias Nogueira

Trabalho de Conclusão de Curso 2 apresentado às 9 horas e 30 minutos do dia 02 de fevereiro de 2017, como requisito para aprovação da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso de Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão. Os candidatos foram arguidos pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho **APROVADO**.

Banca examinadora:

Marcelo Bortoli

Coordenador do Curso de Engenharia
Ambiental

Claudia Eugênia Castro Bravo

Professora Orientadora
Membro da banca

Ivane Benedetti Tonial

Professora Coorientadora
Membro da banca

Adir Silvério Cembranel

Membro da banca

Denise Andréia Szymczak

Professora do TCC2

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia Ambiental”

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente às nossas famílias por terem nos proporcionado o privilégio de estudar e com isso exercer a profissão que escolhemos. Por família entendemos também aquela que ganhamos da vida, longe de casa, que tanto nos apoiaram até aqui.

Agradecemos também à todos os servidores da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, especialmente aos professores que tanto contribuíram para que atingíssemos o nível de conhecimento necessário na realização desse trabalho e nos inspiram à obter cada vez mais conhecimento para a confecção de trabalhos cada vez melhores.

Ao mencionarmos os professores, destacamos as nossas orientadoras Prof.^a Dra. Claudia Eugênia Castro Bravo e Prof.^a Dra. Ivane Benedetti Tonial, pela paciência em nos orientar por uma área a qual tínhamos poucos conhecimentos e que com a confecção desse trabalho foi aprimorado.

Enfim, agradecemos a oportunidade que tivemos com esse trabalho de adquirirmos vivência de laboratório, aprendermos na prática a importância do conhecimento e do planejamento para as ações desempenhadas, não só durante as análises, mas também em nossas vidas como Engenheiros Ambientais.

“I have not failed. I've just found 10,000 ways that won't work.”

Thomas A. Edison

RESUMO

ALVIM, Danilo. A.; NOGUEIRA, Lucas. F. D. Determinação da biomassa microbiana como indicador de qualidade do solo. 2016. 45p. Trabalho de Conclusão de Curso. Coordenação do Curso de Engenharia Ambiental. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, 2016.

A população microbiana presente do solo é extremamente diversificada e abundante, desempenhando um importante papel na decomposição da matéria orgânica do solo. Em função da sensibilidade dos microrganismos às alterações químicas e físicas do solo, a avaliação da biomassa microbiana se torna um indicador importante de sua qualidade. O objetivo deste trabalho foi determinar a qualidade do solo através de parâmetros físico-químicos e biomassa microbiana em amostras coletadas em áreas de vegetação com regeneração natural secundária em estágio inicial (I) e regeneração natural secundária em estágio avançado (A). Os parâmetros analisados foram carbono orgânico e nitrogênio total, umidade, pH, densidade aparente do solo, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana e atividade enzimática microbiana. Com base nos resultados experimentais e teste de Tukey, pode-se afirmar que houve diferença significativa ao nível de 5% entre os parâmetros carbono da biomassa microbiana ($I=0,017 \text{ g.g}^{-1}$ e $A=0,028 \text{ g.g}^{-1}$; nitrogênio da biomassa microbiana ($I= 0,23 \text{ mg.kg}^{-1}$ e $A= 2,71 \text{ mg.kg}^{-1}$); atividade enzimática microbiana ($I = 1,19 \text{ } \mu\text{g FDA.h}^{-1}$ e $A = 1,76 \text{ } \mu\text{g FDA.h}^{-1}$) e umidade ($I = 21,92\%$ e $A = 29,38\%$). De acordo com as condições experimentais, pode-se concluir que os parâmetros biológicos utilizados para determinar a qualidade do solo da área estudada demonstraram ser eficientes com teores de carbono e nitrogênio na biomassa microbiana e atividade enzimática microbiana maiores na área com regeneração secundária em estágio avançado, o que se justifica pela presença da vegetação mais densa, espécies arbóreas mais abundantes, maior sombreamento e maior capacidade de reter umidade.

Palavras-chave: Microbiologia do solo. Regeneração. Solo degradado. Indicadores de qualidade.

ABSTRACT

ALVIM, Danilo. A.; NOGUEIRA, Lucas. F. D. Determination of microbial biomass as soil quality indicator. 2016. 45p. Trabalho de Conclusão de Curso. Coordenação do Curso de Engenharia Ambiental. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, 2016.

The microbial population presented in the soil is extremely plenty and diverse, playing an important role in the decomposition of the organic matter in the soil. Due to the sensibility that the microorganisms show to the physical and chemical changes of the soil, the assessment of the microbial biomass is considered an important index of its quality. The aim of this work was to determine the quality of the soil through physical and chemical parameters and microbial biomass, in samples collected from vegetation areas with passive secondary restoring in early stage (I) and passive secondary restoring in advanced stage (A). The parameters analyzed were organic carbon and total nitrogen, humidity, pH, soil bulk density, carbon and nitrogen of the microbial biomass and microbial enzymatic activity. Based on the experimental results and Turkey tests, it is possible to state that there was a significant difference of 5% between the carbon parameters of the microbial biomass ($I = 0,017 \text{ g.g}^{-1}$ e $A = 0,028 \text{ g.g}^{-1}$); nitrogen in the microbial biomass ($I = 0,23 \text{ mg.kg}^{-1}$ e $A = 2,71 \text{ mg.kg}^{-1}$); enzyme microbial activity ($I = 1,19 \text{ } \mu\text{g FDA.h}^{-1}$ e $A = 1,76 \text{ } \mu\text{g FDA.h}^{-1}$) and moisture ($I = 21,92\%$ e $A = 29,38\%$). According to the experimental conditions, it can be concluded that the biological parameters used to determine the soil quality in the study area proved to be efficient with carbon and nitrogen levels in the microbial mass and higher microbial enzymatic activity in the area with secondary restoring in advanced staged, which is justified by the presence of denser vegetation, more abundant tree species, higher shading and higher capacity to retain soil moisture.

Keywords: Soil microbiology. Regeneration. Soil degradation. Ecological indicator.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2.1 OBJETIVO GERAL	8
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
3 REVISÃO DE LITERATURA	9
3.1 ORIGEM E CONCEITOS DO SOLO	9
3.2 QUALIDADE DO SOLO E SEUS INDICADORES	10
3.3 DEGRADAÇÃO DO SOLO DEVIDO ÀS ATIVIDADES AGRÍCOLAS	13
4 MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO E COLETA DAS AMOSTRAS	19
4.3 DETERMINAÇÃO DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT)	22
4.4 DETERMINAÇÃO DA BIOMASSA MICROBIANA	23
4.4.1 Carbono da biomassa microbiana (CBMS)	23
4.4.2 Nitrogênio da biomassa microbiana (NBMS)	24
4.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA MICROBIANA (AEM)	26
4.6 DETERMINAÇÃO DO pH	27
4.7 DETERMINAÇÃO DO NITROGÊNIO TOTAL	27
4.8 DETERMINAÇÃO DA UMIDADE ATUAL	28
4.9 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE APARENTE (Dap)	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
6 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

1 INTRODUÇÃO

A partir do momento que o homem deixou de ser nômade e começou a cultivar a terra para a obtenção de alimento, o conhecimento sobre as ciências dos solos se fizeram necessários para a sobrevivência humana (LEPSCH, 2010).

Um solo de alta capacidade produtiva pode perder esta característica devido à formas de manejo que não visem sua sustentabilidade (CHURCHMAN, 2010). Mesmo sendo conhecida há muito mais tempo, a correspondência entre o manejo do solo e sua qualidade, só foi cientificamente abordada com mais atenção a partir da década de 1990, sendo assim as publicações que abordam o solo de forma integrada, levando em conta sua qualidade ambiental, são recentes (VEZZANI e MIELNICZUK, 2009).

A sustentabilidade de um sistema agrícola é definido como sendo, sua capacidade de produzir, e com isso atender às necessidades humanas, mas de uma forma que a qualidade do solo seja mantida ou melhorada. A importância da manutenção e avaliação da qualidade do solo faz-se mais evidente em regiões de aptidão agrícola como o Sudoeste do Paraná, onde a área de estudo está inserida.

Práticas agrícolas inadequadas podem degradar qualidade do solo, o que faz surgir a demanda por técnicas de recuperação (PRIMAVESI, 1997).

Ao avaliar a qualidade do solo, devem ser considerados seus aspectos, físicos, químicos e biológicos, sendo que dentro desse último os parâmetros microbiológicos mostram-se bons indicadores dos aspectos físicos e químicos (ANDREOLA e FERNANDES, 2007).

Dentro os parâmetros microbiológicos que servem como parâmetros de qualidade do solo estão a biomassa microbiana. A biomassa microbiana é a porção viva da matéria orgânica do solo composta em sua maioria por bolores, leveduras, bactérias e arqueas, que devido a sua intrínseca relação com o solo e seus atributos, fazem com que a biomassa microbiana responda rapidamente à perturbações e alterações da qualidade do solo (KASCHUK *et al.*, 2009).

Nesse contexto o objetivo desse trabalho é determinar a qualidade do solo através de parâmetros físico-químicos e biomassa microbiana em solos de áreas em diferentes estágios de regeneração natural secundária: inicial e avançada.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a qualidade do solo através de parâmetros físico-químicos e biomassa microbiana em solos de áreas degradadas em diferentes estágios de regeneração natural secundária: inicial e avançada.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Quantificar carbono e nitrogênio da biomassa microbiana nos solos de regeneração inicial e avançada;

Quantificar a atividade enzimática microbiana nos solos de regeneração inicial e avançada;

Avaliar os parâmetros físico-químicos do solo (carbono orgânico total do solo, nitrogênio total do solo, pH, umidade e densidade aparente) em estágio de regeneração inicial e avançada;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ORIGEM E CONCEITOS DO SOLO

O solo é formado através da desintegração da rocha-mãe. Esse intemperismo é resultado de fatores físico, químicos e biológicos, agindo simultaneamente. Os fatores que têm maior influência na formação dos solos são: o material de origem, o clima, a atividade dos seres vivos, o relevo e o tempo. A diversidade de tipos de solo está relacionada às inúmeras e diferentes combinações de variações dos fatores acima citados (BERTONI e LOMBARDI NETO, 2008).

O intemperismo das rochas mais resistentes forma um material solto, esse material que se desprende da rocha é chamado de saprolito. O saprolito permite a colonização de plantas simples e pequenos animais, que ao se decomporem formarão o húmus. Os minerais menos resistentes ao serem intemperizados formam argilas, ainda existe a influência da dinâmica das águas em todo esse processo, pois a água das chuvas ao se infiltrar no solo arrasta junto materiais para camadas mais profundas (LEPSCH, 2010).

Todas essas variáveis envolvidas na formação dos solos, faz com que seja necessário um sistema para que os diferentes tipos de solo sejam classificados de acordo com características comuns.

O atual Sistema Brasileiro de Solos (EMBRAPA, 2006), baseado nas características dos solos e nos fatores de sua formação, divide os tipos de solo em 13 grandes classes de solo: Argilossolos, Cambissolos, Chernossolos, Espodossolos, Gleissolos, Organossolos, Luvisolos, Neossolos, Nitossolos, Planossolos, Plintossolos, Vertissolos e Latossolos.

No Brasil, existe predominância dos Latossolos, Argilossolos e Neossolos, que somados representam cerca de 70% dos solos do país. A soma das áreas com solo classificado como Latossolos e Argilossolos representam cerca de 58% do território brasileiro; são solos profundos, altamente intemperizados, ácidos, de baixa fertilidade natural, em certos casos, saturados por alumínio. Solos de maior fertilidade natural também ocorrem, e são em geral rasos em decorrência de seu baixo grau de intemperismo, caracterizados nas classes dos Neossolos, Argissolos, Luvisolos, Planossolos, Nitossolos, Chernossolos e Cambissolos (SANTOS, FIDALGO e ÁGLIO, 2016).

O solo, por sua multifuncionalidade, teve no decorrer dos anos, vários conceitos (CERTINI e UGOLINI, 2013). Historicamente, o conceito mais antigo é o agrônômico, que conceitua o solo como um meio natural para o crescimento de plantas terrestres. No final dos anos de 1880, o russo Vasilij V. Dokuchaev, pai da pedologia (do latim: *pedon* = solo; *logos* = estudo), propôs um conceito naturalista, conceituando o solo como uma entidade tridimensional localizado na superfície de terra, com características físicas, químicas e biológicas resultantes da interação entre tempo, organismos vivos e mortos, rochas e clima em uma determinada posição topográfica (CERTINI e UGOLINI, 2013).

Em seu conceito pedológico, o solo é definido como um conjunto de corpos naturais e dinâmicos que contêm matéria viva, sendo resultado da ação do clima, dos organismos, do relevo e do tempo sobre o material de origem (LEPSCH, 2010).

Para a Associação Brasileira de Normas Técnicas, solo é o material proveniente da decomposição das rochas pela ação de agentes físicos ou químicos, podendo ou não conter matéria orgânica (ABNT, 1995).

A concepção de solo depende do conhecimento adquirido a seu respeito atrelado às diferentes atividades relacionadas. Em termos ecológicos, o solo é um habitat extremamente peculiar com relação a outros habitats terrestres, em vista de sua natureza heterogênea, complexa e dinâmica, proporcionando, assim, condições ideais para uma biodiversidade extremamente elevada e com metabolismos díspares. Quanto maior a complexidade da comunidade biológica, como ocorre na maioria dos solos, maior é sua estabilidade (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

3.2 QUALIDADE DO SOLO E SEUS INDICADORES

Da mesma forma que o conceito de solo varia de acordo com a área de interesse em questão, o conceito de qualidade do solo também é diferente para seus diferentes usos. Para produtores agrícolas a qualidade do solo é entendida como sua capacidade de produzir mais alimentos, já para os ambientalistas a qualidade do solo pode ser entendida como a capacidade de manter a biodiversidade, a qualidade da água, a ciclagem de nutrientes e a produção de biomassa (USDA, 2016).

Pensando de forma integrada, com vista ao equilíbrio e sustentabilidade dos diferentes usos do solo, sua qualidade pode ser definida como a capacidade do solo

de funcionar dentro dos limites do ecossistema, mantendo a produtividade biológica, a qualidade ambiental, promovendo assim a saúde vegetal e animal. Esse conceito é baseado no que foi criado e difundido por Doran e Parkin na década de 1990, época quando mesmo com os insumos crescentes a produção começou a apresentar menores crescimentos (MAIA, 2013).

Avaliar a qualidade do solo é uma atividade desafiadora, pois o mesmo tem diversos usos, e é base de inúmeras inter-relações entre os seus parâmetros físico, químicos e biológicos. Um complemento ao conceito de qualidade do solo, é o fato de um solo de boa qualidade ser capaz de funcionar dentro de um ecossistema, sendo assim, bons indicadores de qualidade devem refletir a sustentabilidade do ecossistema solo de forma integrada (ARAÚJO e MONTEIRO, 2007).

Os serviços ecossistêmicos prestados pelo solo dependem da complexidade de sua estrutura. A complexidade da estrutura do solo está por sua vez, relacionada com a quantidade de matéria e energia contidas no solo e com o número de relações ecológicas que existem entre os diferentes elementos que compõem o sistema solo (VEZZANI, 2015).

Existem diferentes bioindicadores que podem indicar de forma prática a qualidade do solo. Dentre estes bioindicadores pode-se citar determinadas espécies de plantas, insetos, minhocas, entre outros, que além da análise agrônômica do solo, leva em conta atributos químicos, como a densidade aparente e o teor de matéria orgânica (KARLEN *et al.*, 2003).

A matéria orgânica do solo é um agregado de tecidos vivos ou em diferentes estágios de decomposição, considerada um bom indicador da qualidade do solo, pois representa processos físicos, químicos e biológicos, estando relacionada com a aeração, ao aporte de carbono e nitrogênio, retenção de umidade e aos organismos do solo (BOLINDER, 1999).

A avaliação da qualidade do solo é bastante focada nos parâmetros de fertilidade já estabelecidos. Para as atividades agrícolas os indicadores físicos como a umidade e a densidade aparente, assumem o papel de controlar a relação do solo com os processos hidrológicos, enquanto os parâmetros químicos como o pH, o carbono orgânico total o nitrogênio total indicam os processos ocorridos no solo (GOMES e FILIZOLA, 2006).

O pH é considerado um parâmetro importante pois controla a solubilidade dos nutrientes no solo e influencia também na absorção dos mesmos pelas plantas,

enquanto o carbono orgânico total, tem relação direta com a estrutura do solo, que por sua vez influencia em sua capacidade de reter água (GOMES e FILIZOLA, 2006).

A matéria orgânica no solo não se apresenta de forma homogênea, tendo esta duas frações distintas: a matéria orgânica lábil e a matéria orgânica estável. A parcela estável é chamada também de humificável por constituir o húmus, atuando positivamente na qualidade física e química dos solos, onde pode permanecer por centenas de anos (LEITE *et al.*, 2015).

Diferente da fração estável, a matéria orgânica lábil se decompõe em meses, sendo, portanto de decomposição rápida (FIGUEIREDO *et al.*, 2010). Por essa razão, a fração lábil reflete melhor como as práticas de manejo e afeta a qualidade do solo, um indicativo de resposta mais rápida que o carbono orgânico total (SALVO, *et al.*, 2010).

A matéria orgânica morta representa a maior parte do carbono orgânico do solo, principalmente na forma de húmus. A parte viva da matéria orgânica representa apenas de 1 a 5% da totalidade da matéria orgânica do solo, e dessa parte de 5 a 10% são raízes, de 15 a 30% são compostos pela macrofauna e a maior parte, de 60 a 80% é composta de microrganismos. Sendo assim, a maior parte da matéria orgânica viva do solo é composta pela chamada biomassa microbiana (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

O uso da microbiota como indicador de qualidade do solo surge por meio de observações de que os microrganismos, em último nível, são os responsáveis por recuperarem formas de energia e nutrientes que outros organismos não conseguem (LOREAU, 2001).

Um ecossistema não degradado é aquele que tem o seu fluxo de nutrientes pelos níveis tróficos mediado em sua maioria pela microbiota, principal responsável pela ciclagem da matéria orgânica (NOGUEIRA *et al.*, 2006).

A biomassa microbiana é primordial a variados processos ocorridos no solo como: a decomposição de resíduos orgânicos; degradação de poluentes; ciclagem e solubilização de nutrientes; estruturação do solo e o controle biológico de patógenos (KASCHUK *et al.*, 2009). Dessa forma, por estarem tão intimamente associados aos processos ecológicos do ambiente, os microrganismos apresentam grande potencial como indicadores da qualidade do solo (HOFMAN *et al.*, 2003). Devido a suas funções no solo e sua capacidade de responder de forma mais rápida à mudanças ambientais do que qualquer outro parâmetro usado tradicionalmente para a mensuração da qualidade do solo, pois a biomassa microbiana correlaciona-se com microrganismos

funcionais como os amoníferos e nitrificante, diversidade microbiana, populações de bactérias simbióticas e atividade enzimática microbiana no solo (KASCHUK *et al.*, 2009).

Os microrganismos são considerados as principais fontes de enzimas do solo, sendo assim, o estudo da atividade enzimática microbiana têm sido reportadas como indicador efetivo da qualidade do solo, da decomposição da matéria orgânica e da disponibilidade de nutrientes decorrentes das práticas de manejo ou do ambiente (QUILCHANO e MARANÓN, 2002). As enzimas de interesse na ciclagem de nutrientes são aquelas que catalisam a hidrólise de constituintes da matéria orgânica do solo (FIORETTO *et al.*, 2001).

Os principais parâmetros físicos que conferem qualidade ao solo são: a textura, a estrutura, a resistência à penetração, profundidade de enraizamento e disponibilidade e transmissão da água (GOMES e FILIZOLA, 2006).

A estrutura do solo, por sua vez, está relacionada com a estabilidade dos agregados formados por ele; um solo de boa estabilidade estrutural tem menor propensão a ser compactado ou erodido. A estabilidade do solo depende, dentre outros fatores, da matéria orgânica e dos organismos do solo (DUFRANC *et al.*, 2004).

A formação dos agregados que conferem estrutura ao solo é complexa, e como já citado, depende de variados fatores, abióticos e bióticos. Os fatores abióticos de estruturação do solo são mais amplamente descritos na literatura. Quanto aos fatores bióticos, esses se encontram discutidos de maneira fragmentada, porém com subsídios para afirmar sua importância no processo de formação dos agregados (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Os microrganismos exercem ação física na agregação das partículas do solo, através das hifas dos fungos filamentosos, ou também por meio de substâncias cimentantes. Essas substâncias são normalmente polissacarídeos de alta viscosidade e compostos húmicos gerados pela atividade de organismos heterotróficos decompondo matéria orgânica (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

3.3 DEGRADAÇÃO DO SOLO DEVIDO ÀS ATIVIDADES AGRÍCOLAS

As principais causas da degradação dos solos são as práticas de manejo, voltadas à produção agrícola, que não consideram as medidas conservacionistas adequadas. As técnicas de manejo usadas convencionalmente na produção agrícola

têm como objetivos básicos a maximização da produção e do lucro. As práticas de manejo do solo desenvolvidas para que os objetivos da agricultura convencional fossem alcançados, estão em desacordo com a dinâmica ecológica dos agroecossistemas, tornando assim a produção não sustentável (GLIESSMAN, 2001).

A agricultura convencional é baseada em seis práticas que propiciam uma maior produtividade, mas que ao mesmo tempo formam um sistema onde cada técnica depende e demanda do uso cada vez mais intensivo da outra (GLIESSMAN, 2001).

As práticas e técnicas da agricultura convencional que potencialmente degradam a qualidade do solo podem ser citadas como sendo: o cultivo intensivo do solo, o plantio de monoculturas, a aplicação intensiva de fertilizantes sintéticos, a irrigação inadequada, o controle de pragas e ervas daninhas, por meio de aditivos químicos e manipulação do genoma das plantas (GLIESSMAN, 2001).

O cultivo intensivo do solo caracteriza-se por cultivar o solo regularmente e em profundidades consideráveis, com a intenção de torná-lo mais fofo e melhorar sua drenagem, propiciando assim um melhor ambiente para o desenvolvimento das raízes (GLIESSMAN, 2001).

A aração se mostra mais adequada para propiciar a penetração de água com nutrientes em solos congelados de climas temperados. Porém, para solos de países tropicais como o Brasil, o revolvimento intensivo expõe ao calor e à luz intensa os microrganismos, essenciais para os processos de troca de energia, reduzindo assim sua atividade no solo. Após o revolvimento, o solo também se torna mais susceptível ao carreamento de nutrientes pelo escoamento superficial das chuvas, à compactação, à perda de matéria orgânica e também à liberação do dióxido de carbono (CO₂) armazenado no solo para a atmosfera (ROCHA, ROSA e CARDOSO, 2009).

Quando o preparo intensivo do solo é aplicado em culturas de curta duração, as áreas devem ser aradas várias vezes ao ano, o que significa o uso de maquinário pesado e períodos onde o solo fica sem cobertura alguma, como consequência o solo acaba por ser compactado e por perder matéria orgânica, o que reduz a fertilidade e prejudica a sua estrutura (ROCHA, ROSA e CARDOSO, 2009).

O plantio de monoculturas permite que o maquinário agrícola de plantio e de colheita possa ser mais eficientemente usado, o que propicia uma maior mecanização e redução na mão-de-obra necessária (GLIESSMAN, 2001).

Porém, por não ter diversidade de espécies, tem menos disponibilidade de matéria orgânica, menores taxas de respiração do solo, menos conteúdo de carbono orgânico e microbiano, sendo assim mais dependentes de fertilizantes inorgânicos para complementação de nutrientes e estão mais suscetíveis a ataques de pragas, o que por sua vez intensifica o uso de aditivos químicos (AZAR *et al.*, 2013).

A adubação por fertilizantes sintéticos muitas vezes acontece sem o adequado acompanhamento técnico agrícola, isso faz com que o produtor tenha prejuízos e causa impactos ambientais como a salinização do solo, e com a lixiviação dos fertilizantes pela água das chuvas o que pode causar a eutrofização de corpos hídricos devido ao excesso de nutrientes nesses ambientes (ROCHA, ROSA e CARDOSO, 2009).

Os fertilizantes sintéticos químicos são usados para disponibilizar minerais para as plantas em curto prazo. A problemática ambiental com esses fertilizantes é o fato de seus componentes minerais serem facilmente lixiviados, especialmente em culturas irrigadas, o que pode levar um excesso de nutrientes como fósforo e nitrogênio para corpos hídricos, causando sua eutrofização (ARAÚJO FILHO *et al.*, 2013).

Assim como citado anteriormente, áreas irrigadas têm maior propensão a lixiviar aditivos usados na agricultura, poluindo assim os recursos hídricos, além disso, em regiões onde existe escassez de água, a irrigação se caracteriza como um uso conflitante ao abastecimento e aos ecossistemas aquáticos, no caso da água usada ser subterrânea pode ocorrer também o rebaixamento da terra e em regiões litorâneas a intrusão no lençol freático de água salgada (GLIESSMAN, 2001).

A utilização de aditivos químicos para o controle de organismos indesejáveis é a base da produção agrícola atual, que visa produzir grande quantidade de alimentos por área e com reduzida demanda de mão de obra (BAIRD, 2002).

Os aditivos químicos usados no controle de pragas e ervas daninhas, chamadas também de plantas espontâneas, é uma forma de reduzir drasticamente as populações de organismos que causam perdas à produção. Esses aditivos podem ser pesticidas ou herbicidas, e quando sintetizados industrialmente, sendo assim substâncias estranhas ao ambiente, são também chamados de xenobióticos (ROCHA, ROSA e CARDOSO, 2009).

Muitas vezes, usa-se uma dose muito maior que a necessária de xenobióticos nas culturas. Após a aplicação, os xenobióticos podem permanecer no solo por tempo considerável, uma vez no solo eles podem ser retidos, transformados ou

transportados. O transporte dos xenobióticos é o destino que causa maior preocupação ambiental, pois pode contaminar os corpos hídricos causando malefícios à saúde e aos ecossistemas (ROCHA, ROSA e CARDOSO, 2009).

Os agrotóxicos, se usados incorretamente, eliminam também outras espécies benéficas às plantações, como os insetos polinizadores e até mesmo os predadores das próprias pragas. Sendo assim, o uso indevido de defensivos agrícolas pode se tornar uma dependência para que a produção mantenha-se elevada, pois as pragas podem adquirir resistência aos aditivos, fazendo necessária sua aplicação em doses cada vez maiores, sendo esse um risco ambiental, pois os agrotóxicos ao serem lixiviados extrapolam as propriedades e podem persistir por décadas na cadeia alimentar causando problemas para organismos de diferentes níveis da cadeia trófica (EMBRAPA, 2005).

A manipulação do genoma das plantas pode ser explicada como sendo a seleção de características que tornem as plantas mais interessantes ao cultivo. A história dessa técnica se confunde com a história da própria agricultura, pois as espécies silvestres foram com o passar do tempo sendo manipuladas, para que as características interessantes à humanidade foram mantidas (GLIESSMAN, 2001).

Com o advento do melhoramento genético e da biotecnologia, são cada vez mais comuns cultivos geneticamente modificados, pois assim é possível conferir às plantas características que não seriam possíveis com o melhoramento convencional. No entanto, esse tipo de cultivo ainda carece de pesquisa científica referente aos seus impactos ambientais, pois muitas são as incertezas quanto aos potenciais impactos desse tipo de cultivo (RIBEIRO e MARIN, 2012).

Apesar de a manipulação genética ser feita há muito tempo, milhares de anos, foi a partir da chamada revolução verde e do mais recente advento da engenharia genética que essa questão se tornou realmente preocupante do ponto de vista ambiental. Apesar de serem capazes de produzir mais do que as variedades naturais, as variedades híbridas podem ser mais dependentes de fertilizantes e defensivos agrícolas por perderam ao longo da manipulação genética a resistência natural existente nas suas parentes não-híbridas (GLIESSMAN, 2001).

Todas essas práticas de manejo convencional da agricultura em curto prazo, realmente aumentam a produção e os lucros, porém isso não ocorre de forma sustentável. A produtividade futura é prejudicada em detrimento de uma maior produtividade no presente, os países que passaram pela revolução verde, têm em alguns casos, passado por queda na produtividade atual como reflexo do uso indevido

do solo cultivável. Os processos ecológicos que asseguram os recursos essenciais às atividades agrícolas como a água, a diversidade genética, e o solo são explorados além de suas capacidades e com isso estão sendo degradados (GLIESSMAN, 2001).

Apresentados os mecanismos de degradação do solo por atividades agrícolas, fazem-se necessárias técnicas que permitam a recuperação da qualidade do solo nessas áreas. Dentre diferentes técnicas, que visam recuperar serviços ecológicos, os inclusive as do solo, estão a regeneração natural (MARTINS, 2014).

A regeneração natural é por vezes também denominada restauração passiva, é definida por Aronson, Duringan e Brancalion (2011), como sendo o retorno espontâneo de um ecossistema até um patamar desejável, baseia-se simplesmente na retirada do fator degradante a fim de permitir a recuperação da área por meio de sua própria resiliência (CIELO-FILHO e SOUZA, 2016).

A regeneração natural destaca-se dentre as outras possíveis técnicas como menos dispendiosa, para a regeneração de áreas (CALMON *et al.*, 2009).

A maneira como a restauração dos ecossistemas e de suas funções ocorre, depende da intensidade da degradação à qual a área foi submetida e também das condições do ambiente no entorno, que atua como ecossistema de referência para a recuperação da área degradada (CIELO-FILHO e SOUZA, 2016). A regeneração natural baseia-se na colonização da área que sofreu algum distúrbio pela sucessão avançada natural, através de plantas de diferentes estágios sucessionais que vão sendo substituídas conforme a complexidade ecológica da área vai aumentando (MARTINS, 2014).

Os diferentes estágios sucessionais de regeneração natural são baseados em quanto avançado está o processo de sucessão ecológica em determinada área, o termo sucessão ecológica é usado para descrever processos de alteração na vegetação sobre várias escalas, como temporal, espacial ou vegetacional (MIRANDA, 2009).

Durante os estágios sucessionais as comunidades, seres vivos existentes na área, vão sendo substituídas por outras que colonizam o ambiente em mudança, a sequência dessas comunidades é denominada sere, sendo que cada estágio é uma subsere e o sistema estabilizado é denominado clímax (ODUM, 1988).

Para processos sucessionais sobre um substrato parcialmente desocupado, dá-se o nome de sucessão inicial, já para processos sucessionais com início em substrato já ocupado por uma comunidade, dá-se o nome sucessão avançada (ODUM, 1988).

Com isso, áreas degradadas devido ao uso agrícola, ao serem recuperadas por regeneração natural, passarão por um processo de sucessão avançada. A sucessão avançada, por sua vez, pode ser subdividida em estágios sucessionais distintos, mesmo que arbitrariamente, seja utilizada como artifício para a compreensão sobre a recuperação do ecossistema (KAGEYAMA *et al.*, 1986).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO E COLETA DAS AMOSTRAS

A área de coleta das amostras de solo, caracterizado como Latossolo Vermelho (EMBRAPA, 2006), localiza-se na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Francisco Beltrão (26°4'52" S; 53°5'30" O), a área experimental possui histórico de uso agrícola com rotação de culturas. Localização da área conforme Figura 01.



Figura 1. Localização da área de estudo. Fonte: Autoria própria (2017).

O clima da Região Sudoeste do Paraná é definido como subtropical úmido conforme a classificação de Köppen (ITCG, 2008). A época de maior precipitação é no verão (média anual de 1800 a 2000 mm), contudo sem estação seca definida (CAVAGLIONE *et al.*, 2000). A temperatura média no mês mais frio é inferior a 18°C (mesotérmico) e temperatura média no mês mais quente é acima de 22°C, com verões quentes. O período de estudo foi de outubro à dezembro de 2016.

A coleta das amostras foi realizada com auxílio de um trado a uma profundidade de 10 cm, onde é mais expressiva a quantidade e atividade de microrganismos do

solo (SILVA *et al.*, 2010). A disposição dos pontos de coleta é apresentada na Figura 2.



Figura 2. Disposição dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Fonte: Autoria própria (2017).

Foram realizadas três (3) coletas de amostras de solo em estágio de regeneração inicial (I) e estágio de regeneração avançado (A) (CONAMA, 1994). A fitofisionomia das áreas de estudo é ilustrada na Figura 3.



Figura 3. Imagem da fitofisionomia observada nas duas áreas de coleta, estágio inicial de regeneração (I) e estágio avançado de regeneração (A). Fonte: Autoria própria (2017).

As amostras da primeira coleta foram utilizadas para as análises de carbono e nitrogênio na biomassa microbiana, as quais foram peneiradas com peneira de malha com 2 mm e secas ao ar durante uma noite. Após a secagem, parte das amostras foi utilizada para análise de carbono na biomassa microbiana e outra parte armazenada a $\pm 4^{\circ}\text{C}$ em recipiente plástico para o uso da análise de nitrogênio na biomassa microbiana.

Para as amostras da segunda coleta, seguiu-se o procedimento adotado na primeira coleta, sendo as amostras utilizadas para a determinação de carbono orgânico total, nitrogênio total, pH e umidade atual.

As amostras da terceira coleta foram destinadas para avaliação da atividade enzimática microbiana. Todas as coletas foram realizadas nos mesmos pontos, mesma profundidade e empregando-se os mesmos procedimentos de coleta e armazenagem.

4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com 2 tratamentos constituídos por solos em estágios de regeneração natural secundária inicial (I) e avançado (A).

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de Tukey com nível de significância de 5%, para o tratamento estatístico dos dados. A disposição dos dados

experimentais e os cálculos necessários foram feitos com o uso do Excel e a análise estatística foi feita com o uso do programa R-studio.

4.3 DETERMINAÇÃO DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT)

Os teores de carbono orgânico total (COT) foram determinados por via úmida, por dicromato de potássio, como proposto por EMBRAPA (2007). Os equipamentos usados foram o agitador magnético, a balança de precisão e o bloco digestor. E as soluções: dicromato de potássio 0,167 mol.L⁻¹, sulfato ferroso amoniacal 0,20 mol.L⁻¹ e solução indicadora de ferroin.

A amostra de solo seca ao ar, ou “terra fina seca ao ar” (TFSA), foi moída em almofariz e passada na peneira de 0,2 mm. Em média se utiliza de 0,2 a 0,5 g de solo, mas em solos de floresta utiliza-se 0,1 g, no presente trabalho foram utilizadas 0,2 g.

O peso determinado da amostra de solo foi transferido para um tubo de digestão, e então foram adicionados 5 mL de dicromato de potássio, 7,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. O tubos de digestão foram colocados no tubo digestor previamente aquecido à 170°C por 30 minutos e onde esfriaram por mais por 15 minutos.

O conteúdo de cada tubo foi transferido para erlenmeyers de 250 mL com volume completado até 80 mL com água destilada. Com a solução em temperatura ambiente, foram adicionados 0,3 mL da solução indicadora e então titulou-se com a solução de sulfato ferroso amoniacal. O ponto de viragem observado foi a passagem do verde para o violeta-escuro, e o volume gasto na titulação foi anotado.

O carbono total da amostra foi determinado pela Equação 1.

$$C \left(\frac{g}{kg} \right) = (40 - \text{vol. gasto na titulação}) * f * 0,6 \quad \text{Equação 1.}$$

Onde:

$$f = \frac{40}{\text{volume de sulfatoferros o usado na prova dobranco}} \quad \text{Equação 1.1}$$

A proporção de matéria orgânica total foi calculada através da multiplicação do total de carbono orgânico por 1,724, admitindo-se que a matéria orgânica representa cerca de 58% do carbono orgânico.

Sendo assim a matéria orgânica total foi determinada pela Equação 2.

$$M.O \left(\frac{g}{kg} \right) = C \left(\frac{g}{kg} \right) * 1,724 \quad \text{Equação 2.}$$

4.4 DETERMINAÇÃO DA BIOMASSA MICROBIANA

4.4.1 Carbono da biomassa microbiana (CBMS)

O carbono da biomassa microbiana foi determinado pelo método da irradiação-extração, segundo Mendonça e Matos (2005). Com cada amostra de solo contendo pelo menos 50 g, as amostras foram peneiradas, em peneira de 2 mm, e acondicionadas sob refrigeração à 4°C.

Foram utilizados um forno micro-ondas, o agitador de tubos, o agitador horizontal, o agitador magnético, bloco digestor e placas de Petri.

As soluções utilizadas: solução extratora (solução de K_2SO_4 0,5 mol.L⁻¹ com pH ajustado entre 6,5 – 6,8), solução de dicromato de potássio 0,066 mol.L⁻¹, solução de sulfato ferroso amoniacal 0,03 mol.L⁻¹ e solução indicadora de ferroin.

Foram pesadas 20 g de amostra de solo em uma placa Petri com balança analítica para a irradiação e outras 20 g no erlenmeyer que não foi irradiado. Após irradiar as amostras da placa Petri, as amostras irradiadas foram transferidas para erlenmeyers.

Foram adicionados 80 mL de solução extratora, tanto nos erlenmeyers irradiados quanto para os não irradiados. Os erlenmeyers foram então agitados por 30 minutos e deixados em repouso por mais 30 minutos, posteriormente o material sobrenadante foi filtrado e 10 mL do extrato filtrado foi transferido para um erlenmeyer de 125 mL, e adicionados 2 mL da solução de dicromato de potássio, 10 mL de ácido sulfúrico. Após o resfriamento foram adicionados 50 mL de água destilada, e após novo resfriamento, foram adicionados 3 gotas de indicador ferroin. A solução foi então titulada com sulfato ferroso amoniacal 0,03 mol.L⁻¹.

Foram realizadas 6 provas de branco, 3 com adição de 80 mL K₂SO₄ (solução extratora) e demais reagentes e 3 sem K₂SO₄, contendo todos os demais reagentes. O carbono na biomassa microbiana foi determinado a partir das equações 3 e 4.

$$C_{I,NI} = \frac{(Vb - Vam)(\text{molaridade do sulfato ferroso})(3)(1000)(\text{vol. extrator})}{(\text{volume do extrato}^*)(\text{peso do solo})} \quad \text{Equação 3.}$$

Onde: volume do extrato* é volume utilizado para a determinação do carbono (mL);

Vb: volume do branco (mL);

Vam: volume da amostra (mL);

3: resultado da relação entre o número de mols de Cr₂O₇⁻ que reage Fe²⁺ (1/6), multiplicado pelo número de mols de Cr₂O₇⁻ que reagem com o C⁰ (3/2), multiplicado pela massa atômica do C (12);

1000: fator de conversão de unidade.

Com o uso da Equação 4 foi calculado:

$$\text{CBMS} \left(\mu \frac{\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{CI - CNI}{Kc} \quad \text{Equação 4.}$$

Onde:

CI: amostra irradiada;

CNI: amostra não irradiada;

Kc = 0,33 constante para o método de irradiação-extração de CBMS.

4.4.2 Nitrogênio da biomassa microbiana (NBMS)

O nitrogênio na biomassa microbiana foi determinado segundo Mendonça e Matos (2005) com algumas modificações. Os materiais utilizados na determinação do carbono na biomassa microbiana, além dos materiais usualmente utilizados, também se utilizou um destilador Kjeldahl e microburetas de 5 mL.

As soluções utilizadas foram: solução extratora, solução de NaOH 10 mol.L⁻¹, mistura de digestão, solução indicadora de ácido bórico, solução de ácido clorídrico à 0,005 mol.L⁻¹, solução padrão de TRIS 0,05 mol.L⁻¹.

Após pesadas 20 g de solo seco e peneirado em placa Petri irradiada e não irradiada que foram transferidas para um erlenmeyer. Nas mesmas placas, 10 g de solo foram colocadas na estufa à 105°C por 24 horas para determinação da umidade.

Nas amostras irradiadas e não irradiadas, adicionou-se 80 mL de solução extratora, agitadas no agitador horizontal por 30 minutos, deixadas em repouso por mais 30 minutos e então, tiveram o material sobrenadante filtrado com papel filtro.

Foram transferidos 20 mL do extrato em tubos de digestão de 100 mL, e então adicionados: 1 mL de H₂O₂ à 30%, 2 mL de ácido sulfúrico, após o resfriamento adicionou-se 0,7 g de mistura de digestão.

A solução obtida foi colocada no bloco digestor a 110°C e a temperatura foi gradativamente elevada para 350-375°C e mantida nessa temperatura por 2 horas, a solução adquiriu uma coloração amarelo-esverdeado. Após resfriamento foram adicionados 5 mL de água destilada e feita a agitação da solução.

Cada tubo foi conectado ao destilador Kjeldahl e então adicionou-se vagarosamente 10 mL de NaOH à 10 mol.L⁻¹. Em seguida, foi feita a destilação em 5 mL do indicador ácido bórico, e após a coleta de cerca de 35 mL de destilado feita a titulação com ácido clorídrico à 0,005 mol.L⁻¹.

O cálculo do nitrogênio na biomassa foi realizado com as equações 5, 6 e 7:

$$N_1 \text{ (mg/L)} = \frac{(V_{am} - V_{br})[H^+](14)}{\text{volume (L)}} \quad \text{Equação 5.}$$

Onde:

V_{am}: volume de HCl gasto na titulação da amostra;

V_{br}: volume de HCl gasto na titulação do branco;

[H⁺]: concentração real do ácido clorídrico;

14: peso equivalente do nitrogênio.

$$N_{i, NI} \text{ (mg.kg}^{-1}\text{)} = \frac{N_1 * (\text{volume extrator(L)}) * 1000}{\text{peso da amostra (g)}} \quad \text{Equação 6.}$$

Onde 1000 é o fator de conversão de unidade.

$$NBMS \text{ (mg.kg}^{-1}\text{)} = \frac{(NI - NNI)}{Kn} \quad \text{Equação 7.}$$

Onde:

N_i : amostra irradiada;

N_{NI} : nitrogênio da amostra não irradiada

K_n é 0,54 para o método de irradiação-extração do nitrogênio da biomassa microbiana.

4.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA MICROBIANA (AEM)

A atividade enzimática microbiana foi estimada pelo método de hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) segundo o descrito por Silva, Siqueira e Costa (2004) e por Adam e Duncan (2000).

Esse método estima a hidrólise de do 3,6 diacetilfluoresceína (FDA), que expressa a atividade de um grupo de enzimas, sem distingui-las entre si. O método funciona pelo princípio de que o FDA ser hidrolisado apenas por células microbianas ativas, e não por esporos e células microbianas em fase estacionária de crescimento (PEIXOTO, 2010).

Para a determinação da atividade enzimática microbiana, foi construída uma curva de calibração, em que os valores do eixo X representam a concentração de diacetato de fluoresceína (FDA) em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e o eixo Y representa a absorbância (ABS) lida pelo espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 490 nm, pois nesse comprimento o FDA é fortemente absorvido (ADAM e DUNCAN, 2000). A curva é apresentada na Figura 4:

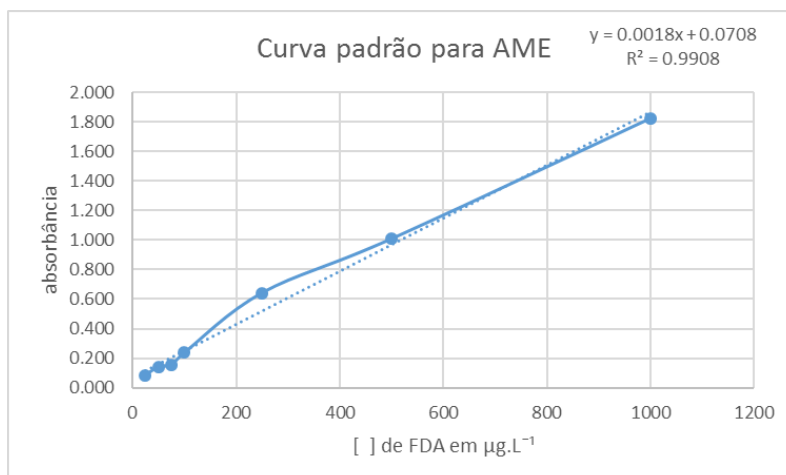


Figura 4. Curva padrão elaborada para determinação da atividade enzimática microbiana.

Para cada amostra foram pesadas 8 g de solo, dispostas em erlenmeyers de 250 mL, foram acrescentados então 50 mL de solução tampão fosfato de potássio, com pH 7,5. Após uma agitação de 40 minutos, acrescentou-se a solução estoque FDA até a alíquota de 250 mL, e então agitados novamente por 60 minutos à 125 rpm.

Após o término da agitação, retirou-se 2 mL da suspensão sobrenadante, e foram adicionados 2 mL de acetona e colocada em centrífuga por 10 minutos e em seguida, feita sua leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda de 490 nm, para a quantidade de fluoresceína hidrolisada, com os dados obtidos foi construída uma curva padrão, com a qual foi possível calcular a fluoresceína hidrolisada.

4.6 DETERMINAÇÃO DO pH

O pH foi determinado em solução de água/solo, 1:2,5 (m/v), que foi agitada com um bastão de vidro, deixado em repouso por 5 minutos e então teve o pH da suspensão homogeneizada aferida pelo pHmetro anteriormente calibrado com o uso de soluções tampão pH 4,0 e pH 7,0 (EMBRAPA, 1997).

4.7 DETERMINAÇÃO DO NITROGÊNIO TOTAL

O nitrogênio total foi determinado pelo método Kjeldahl por destilação a vapor, segundo (EMBRAPA, 1997).

Foram pesados 0,7g de solo, colocados em balão Kjeldahl de 100 mL, foram então adicionados ao balão 15 mL de mistura ácida de sulfatos para que procedesse a digestão, e destruição da matéria orgânica. A solução foi fervida por 1 hora, após o resfriamento, foram adicionados 25 mL de água destilada, e realizada homogeneização da solução, acrescentou-se 2 gotas de solução xaroposa de cloreto férrico, a solução xaroposa se caracterizou por uma solução de cloreto férrico no ponto de saturação.

A solução de NaOH a 30% foi adicionada aos poucos, até que a solução apresentasse coloração castanha. Após o resfriamento da solução, o balão foi preenchido com mais 60 mL de água, e a solução foi novamente homogeneizada por

movimentos circulares e auxílio de bastão de vidro, 20 mL dessa solução foram transferidos para o tudo do destilador Kjeldahl.

Em um erlenmeyer de 125 mL foram adicionados 25 mL da solução de ácido bórico a 4% e 5 gotas de indicador misto, inseriu-se a extremidade livre do destilador nessa solução.

Antes da destilação da solução parcialmente neutralizada foram adicionados 2 mL de soda 30% e procedeu-se a destilação da amônia, a vapor durante aproximadamente 5 minutos. Depois de frio o volume destilado foi titulado, com solução padronizada de H₂SO₄ a 0,01 N, até que ocorresse a mudança da cor azul-arroxeadada para o rosa.

O teor de nitrogênio total no solo foi calculado com a Equação 8:

$$N \text{ (g.kg}^{-1}\text{)} = a - b \quad \text{Equação 8.}$$

a = volume de ácido 0,01 N na amostra (mL)

b = volume de ácido da prova em branco (mL)

4.8 DETERMINAÇÃO DA UMIDADE ATUAL

As amostras de solo foram transportadas em recipientes de plástico e transferidas para cadinhos previamente higienizados, secos e tarados. As amostras foram pesadas e transferidas para estufa a 105°C por 24 horas, resfriadas em dessecador e pesadas novamente (EMBRAPA, 1997). A umidade foi determinada através da diferença de peso da amostra antes e depois de secagem segundo a Equação 9.

$$\text{Umidade (\%)} = \frac{100*(a-b)}{b} \quad \text{Equação 9.}$$

a = peso da amostra úmida (g)

b = peso da amostra seca (g)

4.9 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE APARENTE (Dap)

A densidade aparente (Dap) foi determinada pelo método do anel volumétrico. O solo foi coletado através de um anel de aço (Kopecky) de bordas cortantes e volume interno de 50 cm³, sem que sua estrutura fosse destruída. O conjunto foi colocado na estufa a 105°C por 24 horas, e pesado após o resfriamento (EMBRAPA, 2007). Sendo o cálculo da densidade aparente feito pela Equação 10.

$$Dap \text{ (g.(cm}^3\text{)}^{-1}) = \frac{a}{b}$$

Equação 10.

Onde:

a = peso da amostra seca a 105°C (g)

b = volume do anel ou cilindro (cm³)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da caracterização do solo sob os dois diferentes estágios de regeneração natural inicial e avançada são apresentados na Tabela 1.

Parâmetros avaliados									
Estágio de regeneração	valor	COT (dag.kg ⁻¹)	C-BMS (g.g ⁻¹)	N-BMS (mg.kg ⁻¹)	AEM (µg FDA.h ⁻¹)	pH	N-total (g.kg ⁻¹)	Umidade (%)	Dap (g.(cm ³) ⁻¹)
Inicial	min.	5,31	0,013	0,16	0,98	5,62	1,2	20,75	1,25
	máx.	5,97	0,021	0,25	1,42	6,27	1,4	23,08	1,42
	média	5,64 a	0,017 b	0,2 b	1,19 b	5,98 a	1,25 a	21,92 b	1,36 a
	± d.p	0,23	0,003	0,03	0,21	0,23	0,18	0,92	0,06
Avançado	min.	5,6	0,026	2,22	1,44	5,81	0,9	26,37	1,23
	máx.	5,92	0,03	3,14	2,07	6,39	1,4	33,28	1,34
	média	5,74 a	0,028 a	2,71 a	1,76 a	6,1 a	1,3 a	29,38 a	1,29 a
	± d.p	0,14	0,002	0,34	0,25	0,24	0,08	2,82	0,04

Tabela 1. Resultados das análises feitas com as amostras coletadas nas áreas em estágio de regeneração inicial (I) e avançada (A). *Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey. COT = carbono orgânico total; C-BMS = carbono na biomassa microbiana do solo; N-BMS = nitrogênio na biomassa microbiana do solo; AEM = atividade enzimática microbiana; N-total = nitrogênio total; Dap = densidade aparente.

Observa-se na Tabela 1, que os valores médios de carbono orgânico total obtido neste estudo foram superiores a 55 g.kg⁻¹ de solo e não houve diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$). Valores superiores aos encontrados em estudo semelhante, em que a média foi de aproximadamente 35 g.kg⁻¹ para mata nativa e 28 g.kg⁻¹ para campo nativo, também não apresentaram diferença estatística ao mesmo nível de significância (RHEINHEIMER *et al.*, 2008).

Considerando que a utilização de métodos convencionais de preparo do solo, normalmente provoca redução nos teores de carbono orgânico no solo, resultante do aumento da taxa de decomposição anual ou redução da taxa de adição de material orgânico, pode-se dizer que os teores de carbono no solo das áreas estudadas, mesmo na área ainda em estágio inicial de regeneração, já se configuram como os de uma área regenerada (DALAL e MAYER, 1986).

Os valores obtidos de carbono na biomassa microbiana para as áreas em regeneração natural inicial e avançada diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) apresentando 0,017 e 0,028 gramas de carbono por grama de solo, respectivamente.

Segundo Gama e Rodrigues (1999), o carbono da biomassa microbiana geralmente compreende 2 a 4% do COT, sendo que valores menores que estes, indicam perdas de carbono do sistema. Os teores de CBMS encontrados neste estudo representam aproximadamente 30% de COT nas amostras de regeneração natural inicial e 49% de COT nas amostras de regeneração natural avançado.

Para Wardle (1992), atributos químicos e variáveis macroclimáticas, como o regime de chuvas, considerados em conjunto são quase sempre capazes de explicar a variação global da atividade e dos teores de carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, especialmente em solos florestais, sendo assim a disparidade nos valores absolutos no CBMS pode ser justificado pela não consideração dos fatores climáticos ou erros no procedimento de análise (GAMA e RODRIGUES, 2005).

A precipitação pluvial é um componente que controla, em escala regional, o processo de decomposição da matéria orgânica do solo e, conseqüentemente, a atividade dos microrganismos. Uma maior precipitação pluvial leva à maior produção de biomassa, a uma maior acumulação de matéria orgânica no solo e, portanto, ao aumento da ação dos microrganismos, pela maior quantidade de substrato disponível, nos processos de imobilização do carbono e do nitrogênio e mineralização do nitrogênio (LAVELLE *et al.*, 1993; BERG, 2000; SANTANA, 2000).

O resultado obtido neste estudo mostra um maior valor médio para as amostras coletadas na área de regeneração avançada do que na área de regeneração inicial, sendo que pode ser observada uma redução de 28% no teor de CBMS comparando-se os dois estágios. Esse valor assemelha-se ao encontrado por autores que estudam o teor do CBMS em solos com vegetação natural comparado ao teor em solos onde ocorre manejo agrícola, sendo que nesses casos a redução gira em torno dos 30 % (SILVA *et al.*, 2012).

Os valores obtidos de nitrogênio na biomassa microbiana para as áreas em regeneração natural inicial e avançada diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) apresentando teores de 0,23 e 2,71 microgramas de nitrogênio por quilo de solo, respectivamente.

O manejo convencional do solo durante vários anos, geralmente resulta na redução da biomassa microbiana do solo, influenciada pela maior temperatura e menor umidade do solo. A média do teor de NBMS na área de regeneração avançada foi consideravelmente superior ao teor de NBMS na área de regeneração inicial. Isso evidencia que em áreas não perturbadas, com manutenção da cobertura vegetal, há

maior concentração de nitrogênio microbiano (PATRA *et al.*, 1990; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ e LÓPEZ-HERNÁNDEZ, 2002).

Em solos com baixa fertilidade, como na área sob cerrado nativo, a taxa de decomposição de matéria orgânica pode ser menor, levando à imobilização de nitrogênio na biomassa microbiana, e esta pode funcionar como reserva de nitrogênio (Gama-Rodrigues *et al.*, 1997). O aumento da mobilização do nitrogênio no solo resulta em decréscimo da sua capacidade de imobilização e conservação, levando a maiores perdas por lixiviação (Vargas & Scholles, 1998).

A imobilização pela biomassa microbiana é temporária; na medida em que ocorre a morte dos microrganismos, há a mineralização destes pelo restante da biomassa, liberando os nutrientes imobilizados. A biomassa microbiana é um componente importante do nitrogênio potencialmente mineralizável. Portanto, quanto maior o conteúdo de nitrogênio na biomassa microbiana, mais rápida será a sua reciclagem (COCHRAN *et al.*, 1988; ANDERSON, 2003).

Os resultados referentes à atividade enzimática microbiana foram obtidos a partir da curva de calibração e verificou-se que existe diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) na taxa de atividade enzimática microbiana entre as amostras coletadas na área de regeneração natural inicial e na área de regeneração natural avançada.

A hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) não expressa a atividade de uma enzima específica, mas a de um grupo de enzimas que são capazes de realizá-la. Neste grupo estão lipases, esterases, proteases indicando dessa forma a atividade microbiana ativa no solo (TAYLOR *et al.*, 2012).

A média dos valores numéricos para a hidrólise de FDA foi maior para as amostras de solo coletadas na área em regeneração avançada, $1,76 \mu\text{g FDA}\cdot\text{h}^{-1}$, do que para as amostras coletadas na área de regeneração inicial com $1,19 \mu\text{g FDA}\cdot\text{h}^{-1}$.

Esse resultado pode ser justificado devido a uma maior atividade da fosfatase ácida em sistemas com cobertura vegetal em estágios de melhor conservação, devido a fatores como, um maior sombreamento, maior manutenção da umidade e o favorecimento da formação de agregados de solo que protegem a matéria orgânica (REIS-JÚNIOR e MENDES, 2006; VEZZANI e MIELNICZUK, 2009).

Outro fator relacionado à maior atividade enzimática microbiana no solo da área em regeneração avançada diz respeito a maior ocupação dessas áreas pela macrofauna e maior variedade de espécies vegetais, quanto mais variada é a composição da matéria orgânica mais é estimulada a proliferação de microrganismos (PRIMAVESI, 2002).

A atividade das enzimas do solo ocorre dentro de uma estreita faixa de pH, pois a microbiota dos solos tropicais está adaptada ao pH entre 5,3 e 6,1. Caso o pH do solo esteja na faixa inadequada, as bactérias que dependem da atividade enzimática podem ter seu número reduzido (PRIMAVESI, 2002).

Os valores obtidos de pH para as áreas em regeneração inicial e avançada não apresentaram diferença estatística significativa, ($p \geq 0,05$), apresentando um pH em torno de 6 para o solo de ambas as áreas, dentro da faixa de pH considerada como ideal para o desenvolvimento das plantas, 5,5 a 7 (AMADO *et al.* 2007).

Os valores obtidos de nitrogênio total para as áreas em regeneração inicial e avançada não apresentaram diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) apresentando aproximadamente 1,3 gramas de nitrogênio por quilo de solo para ambas as amostras.

Segundo Camargo *et al.* (1999), os teores de N-total dependem de fatores como temperatura, umidade, aeração, quantidade e natureza do material orgânico depositado no solo. No solo de mata, a fonte de resíduos orgânicos está associada à deposição natural de restos de plantas, que alcançam o solo na forma de folhas, galhos e outros fragmentos orgânicos, bem como substâncias orgânicas derivadas da decomposição das raízes (POHLMAN e McCOLL, 1988). Cerri (1989), em estudo conduzido em solos da Bacia Amazônica, concluiu que 41,8% do N-total estavam armazenados até 0,2 m do solo, provavelmente em razão do maior acúmulo de material orgânico nos horizontes superficiais, tanto no solo sob vegetação natural quanto no cultivado.

A magnitude das alterações do N-total depende da intensidade do manejo, do tipo e frequência dos implementos (BEARE *et al.*, 1994).

Os valores obtidos de umidade atual para as áreas em regeneração inicial e avançada foram estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$), apresentando umidade em torno 20% nas amostras da área de regeneração inicial e 30 % nas amostras da área de regeneração avançada.

A área com maior densidade de cobertura vegetal apresentou uma umidade consideravelmente maior no dia da coleta, essa tendência é importante para justificar as diferenças também para as análises bioquímicas e microbiológicas, pois a umidade é fator primordial para a atividade dos microrganismos do solo. A cobertura vegetal mais densa auxilia na redução da evaporação superficial, promovendo ao solo uma maior capacidade de reter água, o que por sua vez beneficia a microbiota do solo (NOGUEIRA *et al.*, 2006).

Os valores obtidos para a determinação da densidade aparente para as áreas em regeneração inicial e avançada não apresentaram diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) apresentando valores próximos de $1,3 \text{ g} \cdot (\text{cm}^3)^{-1}$. Em estudo sobre a densidade aparente do solo sob diferentes manejos, Silva *et al.* (2011) encontrou os menores valores para densidade aparente do solo em floresta nativa, $1,34 \text{ g} \cdot (\text{cm}^3)^{-1}$ e relacionou esse valor ao elevado teor de carbono orgânico do sistema.

6 CONCLUSÃO

De acordo com as condições experimentais e com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que os parâmetros biológicos analisados mostraram ser mais sensíveis às mudanças no manejo e à cobertura do solo, do que os parâmetros físico-químicos, podendo ser mais eficientes para a mensuração da qualidade do solo. O solo com regeneração natural secundária avançada mostrou-se com maior atividade microbiana, indicando qualidade superior quando comparado com o solo com regeneração natural inicial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT, Associação Brasileira de Normas e Técnicas. **NBR-6502 Rochas e Solos**, 1995.

ADAM, G.; DUNCAN, H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. **Soil Biology & Biochemistry** 33 (2001) 943 – 951. University of Glasgow, Glasgow, 2000.

AMADO, T. J. C.; CONCEIÇÃO, P. C.; BAYER, C.; ELTZ, F. L. F. Qualidade do solo avaliada pelo “soil quality kit test” em dois experimentos de longa duração no Rio Grande Do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31.p. 109-121, 2007.

ANDERSON, T. H. Microbial eco-physiological indicators to asses soil quality. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 98, n. 1, p. 285-293, 2003.

ANDREOLA, F.; FERNANDES, S. A. P.; A microbiota do solo na agricultura orgânica e no manejo de culturas. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Publicação on-line. Instituto Agronômico de Campinas - SP. 312 p. 2007.

ARAÚJO FILHO, J. C.; GUNKEL, G.; SOBRAL, M. C. M.; KAUPENJOHANN, M.; LOPES, H. L. Soil attributes functionality and water eutrophication in the surrounding area of Itaparica Reservoir, Brazil. **Revista Brasileira de engenharia Agrícola e ambiental**. Campina Grande, v. 17, n. 9, p. 1005-1013, Set. 2013

ARAÚJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R. **Indicadores biológicos de qualidade do solo**. Bioscience Journal, v.23. n.3, p.66-75, 2007. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6684/4403>>. Acesso em: 25 mai. 2016.

ARANSON, J.; DURINGAN, G.; BRANCALION, P. H. S.; Conceitos e definições correlatos à ciência e à prática da restauração ecológica. São Paulo. Série Registros. 38 p., 2011.

BAIRD, C. **Química ambiental**. 2.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

BEARE, M. H.; HENDRIX, P. F.; COLEMAN, D. C. Water-stable aggregates and organic matter fractions in conventional-and no-tillage soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 58, n. 3, p. 777-786, 1994.

BERG, B. Litter decomposition and organic matter turnover in northern forest soils. **Forest ecology and Management**, v. 133, n. 1, p. 13-22, 2000.

BERTONI, J.; LOMBARDI NETO, F. **Conservação do solo**. 6.ed. São Paulo, Ícone. 355 p., 2008.

BERTONI, J.; LOMBARDI NETO, F. **Conservação do Solo**, 7ª Edição, Editora Ícone. São Paulo, SP, 2008.

BOLINDER, M. A.; ANGERS, D. A.; GREGORICH, E. G.; CARTER, M. R. The response of soil quality indicators to conservation management. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 79, n. 1, p. 37-45, 1999.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 4, de 4 de maio de 1994. Define vegetação primária e secundária nos estágios inicial, médio e avançado de regeneração da Mata Atlântica, a fim de orientar os procedimentos de licenciamento de atividades florestais no estado de Santa Catarina.. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=145>> Acesso em: 01 de fevereiro 2017.

CAVIGLIONE, J.H; KIIHL, L.R.B; CARAMORI, P.H; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000.

CERTANI, G.; UGOLINI, F. C. An updated, expanded, universal definition of soil. **Geoderma**, Vol. 192, p. 378-379, 2013.

CERTINI, G.; UGOLINI, F. C.; CORTI, G. Reciprocal influence between soil and forest species. The cases of silver fir and Corsican pine. **Italian Journal of Forest and Mountain Environments**, v. 55, n. 5, p. 327-336, 2013.

CHURCHMAN, G. J.; The philosophical status of soil science. **Geoderma**. Vol. 157.p. 214-221, 2010.

CIELO-FILHO, R.; SOUZA, J. A. D. Assessing passive restoration of an atlantic forest site following a *Cupressus lusitanica* mill plantation clearcutting. **Ciência Florestal**., Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 475-488, 2016.

COCHRAN, V. L.; ELLIOTT, L. F.; LEWIS, C. E. Soil microbial biomass and enzyme activity in subarctic agricultural and forest soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 7, n. 4, p. 283-288, 1989.

COSTA, G. S.; GAMA-RODRIGUES, A. C.; CUNHA, G. M. Decomposição e liberação de nutrientes da serapilheira foliar em povoamentos de *Eucalyptus grandis* no norte fluminense. **Revista Árvore**, v. 29, n. 4, p. 563-570, 2005.

D'ANDRÉA, A. F.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; GUILHERME, L. R. G. Estoque de carbono e nitrogênio e formas de nitrogênio mineral em um solo submetido a diferentes sistemas de manejo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 39, n. 2, p. 179-186, 2004.

DA GAMA-RODRIGUES, E. F.; DA GAMA-RODRIGUES, A. C.; DE BARROS, N. F. Biomassa microbiana de carbono e de nitrogênio de solos sob diferentes coberturas florestais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, n. 3, p. 361-365, 1997.

XAVIER, F. A.; MAIA, S. M. F.; OLIVEIRA, T. S.; MENDONÇA, E. S. Biomassa microbiana e matéria orgânica leve em solos sob sistemas agrícolas orgânico e convencional na Chapada da Ibiapaba-CE. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 2, p. 247-258, 2006.

DALAL, R. C.; HENRY, R. J. Simultaneous determination of moisture, organic carbon, and total nitrogen by near infrared reflectance spectrophotometry. **Soil Science Society of America Journal**, v. 50, n. 1, p. 120-123, 1986.

DALAL, R. C.; MAYER, R. J. Long term trends in fertility of soils under continuous cultivation and cereal cropping in southern Queensland. II. Total organic carbon and its rate of loss from the soil profile. **Soil Research**, v. 24, n. 2, p. 281-292, 1986.

DE ARAÚJO, A. S. F. ; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 3, 2007.

DE SOUZA, E. D; CARNEIRO, M. A. C.; PAULINO, H. B.; SILVA, C. A.; BUZETTI, S. Frações do carbono orgânico, biomassa e atividade microbiana em um Latossolo Vermelho sob cerrado submetido a diferentes sistemas de manejos e usos do solo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 28, n. 3, p. 323-329, 2008.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. **Defining soil quality for a sustainable environment**, p. 1-21, 1994.

DUFRANC, G.; DECHEN, S, C, F.; FREITAS, S. S.; CAMARGO, O. A. Atributos físicos, químicos e biológicos relacionados com a estabilidade de agregados de dois latossolos em plantio direto no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.28, n.3, p.505-517, 2004.

EMBRAPA, Informação tecnológica. **Agroecologia: Princípios e técnicas para uma Agricultura Orgânica Sustentável**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA solos, p. 306, 2006.

EMBRAPA, Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA solos, p. 212, 1979.

EMBRAPA, Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA solos, p. 306, 2006.

FERREIRA, A. S.; CAMARGO, F. A. O.; VIDOR, C. Utilização de microondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 991-996, 1999.

FERREIRA, E. A. B.; RESCK, D. V. S.; GOMES, A. C.; RAMOS, M. L. G. Dinâmica do carbono da biomassa microbiana em cinco épocas do ano em diferentes sistemas de manejo do solo no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 31, p. 1625-1635, 2007.

FIGUEIREDO, C. C.; RESCK, D. V. S.; CARNEIRO, M. A. C. Labile and stable fractions of soil organic matter under management systems and native cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 3, p. 907-916, 2010.

FIORETTO, A.; PAPA, S.; SORRENTINO, G.; FUGGI, A. Decomposition of *Cistus incanus* leaf litter in a Mediterranean maquis ecosystem: mass loss, microbial enzyme activities and nutrient changes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 3, p. 311-321, 2001.

FREIXO, A. A.; MACHADO, P. L. O. A.; GUIMARÃES, C. M.; SILVA, C. A.; FADIGAS, F. D. S. Estoques de carbono e nitrogênio e distribuição de frações orgânicas de Latossolo do Cerrado sob diferentes sistemas de cultivo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, p. 425-434, 2002.

GAMA-RODRIGUES, A. C.; BARROS, N. F.; MENDONÇA, E. S. Alterações edáficas sob plantios puros e misto de espécies florestais nativas do sudeste da Bahia, Brasil. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 23, n. 3, p. 581-592, 1999.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. 2.ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 2001.

GOMES, M. A. F.; FILIZOLA, H. F. **Indicadores físicos e químicos de qualidade de solo de interesse agrícola**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 6, 2006.

HENSON, J. M.; YATES, M. V.; COCHRAN, J. W.; SHACKLEFORD, D. L. Microbial removal of halogenated methanes, ethanes, and ethylenes in an aerobic soil exposed to methane. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 4, n. 3-4, p. 193-201, 1988.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, R. M.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, D. Microbial biomass, mineral nitrogen and carbon content in savanna soil aggregates under conventional and no-tillage. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, n. 11, p. 1563-1570, 2002.

ITCG. **Instituto de Terras Cartografia e Geociências**. Clima: Paraná. ITCG. 2008 Disponível em:
<http://www.itcg.pr.gov.br/arquivos/File/Produtos_DGEO/Mapas_ITCG/PDF/Mapa_Climas_A3.pdf> Acesso em 25 de mai. 2016.

KAGEYAMA, P. Y., BRITO, M. A., BAPTISTON, I. C. Estudo do mecanismo de reprodução de espécies da mata natural. In: KAGEYAMA, P. Y. (Coord.). **Estudo para implantação de matas ciliares de proteção na bacia hidrográfica do Passa Cinco, Piracicaba, SP**. Piracicaba: DAEE/USP/FEALQ, 236 p. 1986.

KARLEN, D. L.; DITZLER, C. A.; ANDREWS, S. S. Soil quality: why and how?. **Geoderma**, v. 114, n. 3, p. 145-156, 2003.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, n. 1, p. 1-13, 2009.

LAVELLE, P.; BLANCHART, E.; MARTIN, A.; MARTIN, S.; SPAIN, A. A hierarchical model for decomposition in terrestrial ecosystems: application to soils of the humid tropics. **Biotropica**, p. 130-150, 1993.

LEITE, L. F. C.; FERREIRA, J. S.; VELOSO, M. E. C.; MOUSINHO, F. E. P.; ROCHA-JÚNIOR, A. F. Variabilidade espacial das frações da matéria orgânica do solo em área degradada sob recuperação. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola E Ambiental**. Campina Grande, v. 19, n. 4, p. 394-401, 2015 .

LEPSCH, I. F. **Formação e Conservação dos Solos**. 2.ed. São Paulo: Oficina de textos, 2010.

LOREAU, M.; NAEEM, S.; INCHAUSTI, P.; BENGTSSON, J.; GRIME, J. P.; HECTOR, A.; HOOPER, D. U.; HUSTON M. A.; RAFFAELLI D.; SCHMID, B.; TILMAN, D.; WARDLE, D. A. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. **Science**, v. 294, n. 5543, p. 804-808, 2001.

LOREAU, M.; HECTOR, A. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. **Nature**, v. 412, n. 6842, p. 72-76, 2001.

LUKE, T. C.; HOFFMAN, S. L. Rationale and plans for developing a non-replicating, metabolically active, radiation-attenuated Plasmodium falciparum sporozoite vaccine. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, n. 21, p. 3803-3808, 2003.

MAIA, C. E. Qualidade ambiental em solo com diferentes ciclos de cultivo do meloeiro irrigado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 4, p. 603-609, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782013000400007&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 28 de mai. 2016.

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

MARTINS, S. V. **Recuperação de áreas degradadas: como recuperar áreas de preservação permanente, voçorocas, taludes rodoviários e áreas de mineração**. 3.ed. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2014.

MARTINS, S. V. **Restauração ecológica de ecossistemas degradados**. 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2015.

MENDONÇA, E.S.; MATOS, E.S.; **Matéria orgânica do solo: Métodos de análise**. Viçosa: UFV, 107p., 2005.

MIRANDA, J. C. Sucessão ecológica: conceitos, modelos e perspectivas. SaBios: **Revista de Saúde e Biologia**, v. 4, n. 1, 2009.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2.ed. atualizada e ampliada, Lavras: UFLA. 729 p., 2006.

NOGUEIRA, M. A.; ALBINO, U. B.; BRANDÃO-JÚNIOR, O.; BRAUN, G.; CRUZ, M. F.; DIAS, B. A.; DUARTE, R. T. D.; GIOPPO, N. M. R.; MENNA, P.; ORLANDI, J. M.; RAIMAN, M. P.; RAMPAZO, L. G. L.; SANTOS, M. A.; SILVA, M. E. Z.; VIEIRA, F.

P.; TOREZAN, J. M. D.; HUGRIA, M.; ANDRADE, G. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 115, p. 237-247, 2006.

ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Guanabara, 434 p., 1988.

PATRA, D. D.; BROOKES, P. C.; COLEMAN, K.; JENKINSON, D. S. Seasonal changes of soil microbial biomass in an arable and a grassland soil which have been under uniform management for many years. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 22, n. 6, p. 739-742, 1990.

PEIXOTO, F. G. T. **Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos do estado de São Paulo sob vegetação nativa e cultivados**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.

PEREZ, K. S. S.; RAMOS, M. L. G.; McMANUS, C. Nitrogênio da biomassa microbiana em solo cultivado com soja, sob diferentes sistemas de manejo, nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 2, p. 137-144, 2005.

POHLMAN, A. A.; McCOLL, J. G. Soluble organics from forest litter and their role in metal dissolution. **Soil Science Society of America Journal**, v. 52, n. 1, p. 265-271, 1988.

PRIMAVESI, A. **Agroecologia: ecosfera, tecnosfera e agricultura**. São Paulo, Nobel, 199p., 1997.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. São Paulo: Nobel, 2002. 549 p.

QUILCHANO, C.; MARAÑÓN, T. **Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils**. *Biology and Fertility of Soils*, v. 35, n. 2, p. 102-107, 2002.

RANGEL, O. J. P.; SILVA, C. A.; GUIMARÃES, P. T. G.; MELO, L. C. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, A. C. Carbono orgânico e nitrogênio total do solo e suas relações com os espaçamentos de plantio de cafeeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 5, p. 2051-2059, 2008.

REIS-JÚNIOR, F. B.; MENDES, I. C. Uso de parâmetros microbiológicos como indicadores para avaliar a qualidade do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas. In: **FERTBIO**, 2006, Bonito, MS. Anais... FERTBIO, 2006.

RHEINHEIMER, D.S.; CAMPOS, B.H.C.; GIACOMINI, S.J.; CONCEIÇÃO, P.C.; BORTOLUZZI, E.C. 2008. Comparison of determination methods of total organic carbon in soils. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, 435-440. 2008.

RIBEIRO, I. G.; MARIN, V. A. **A falta de informação sobre os Organismos Geneticamente Modificados no Brasil** The lack of information on Genetically Modified Organisms in Brazil. 2012.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução à química ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 256p., 2009.

SALVO, L.; HERNANDEZ, J.; ERNEST, O. Distribution of soil organic carbon in different size fractions, under pasture and crop rotations with conventional tillage and no-till systems. **Soil & Tillage Research**, v.109, p.116-122, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016719871000098X>>. Acesso em 04 jun. 2016.

SANTANA, R. C., BARROS, N. D., NOVAIS, R. F., LEITE, H. G.; COMERFORD, N. B. Alocação de nutrientes em plantios de eucalipto no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.2723-2733, 2008.

SANTOS, H. G.; FIDALGO, E. C. C.; ÁGLIO, M. L. D.; **Árvore do conhecimento: Extensão e Distribuição dos Solos**. Agência EMBRAPA de Informação e Tecnológica (AGEITEC). Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fesi63xh02wx5eo0y53mhyx67oxh3.html>>. Acesso em: 28 mai. 2016.

SILVA, C. F.; PEREIRA, M. G.; MIGUEL, D. L.; FEITORA, J. C. F.; LOSS, A.; MENEZES, C. E. G.; SILVA, E. M. R. Carbono orgânico total, biomassa microbiana e atividade enzimática do solo de áreas agrícolas, florestais e pastagem no médio Vale do Paraíba do Sul (RJ). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 1680-1689, 2012.

SILVA, D. C.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; OLIVEIRA, A. H.; SOUZA, F. S.; MARTINS, S. G.; MACEDO, R. L. G. Atributos do solo em sistemas agroflorestais, cultivo convencional e floresta nativa. **REA – Revista de estudos ambientais** (Online) v.13, n. 1, p. 77-86, 2011.

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**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1493-1496, 2004.

SILVA, R. R.; SILVA, M. L. N.; CARDOSO, E. L.; MOREIRA, F. M. S.; CURI, N.; ALOVISI, A. M. T. Biomassa e atividade microbiana em solo sob diferentes sistemas de manejo na região fisiográfica Campos das Vertentes – MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v. 34. p. 1585-1592, 2010.

SIQUEIRA NETO, M., PICCOLO, M. D. C., SCOPEL, E., COSTA JUNIOR, C. D., CERRI, C. C.;BERNOUX, M. Carbono total e atributos químicos com diferentes usos do solo no Cerrado. **Acta Scientiarum. Agronomy** (Online), v.31, n.4, p.709-717, 2009.

TAYLOR, J. P.; WILSON, B.; MILLS, M. S.; BURNS, R. G.; Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils subsoils using various techniques. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34. p. 387- 401, 2002.

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

VEZZANI, F. M.; MIELNICZUK, J.; Uma visão sobre a qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 743-755, 2009.

VEZZANI, F. Solos e os serviços ecossistêmicos (Soils and the Ecosystem Services). **Revista Brasileira de Geografia Física**, América do Norte, n.12, 2015.

VITORELLO, V.A.; CERRI, C.C.; ANDREUX, F.F.C.; VICTORIA, R.L. Organic matter and natural carbon-13 distribution in forested and cultivated oxisols. **Soil Science Society of America**. Journal, Madison, v.53, p.773-778, 1989.

WARDLE, D. A. Changes in the microbial biomass and metabolic quotient during leaf litter succession in some New Zealand forest and scrubland ecosystems. **Functional Ecology**, p. 346-355, 1993.

WARDLE, David A.; ZACKRISSON, O.; NILSSON, M.-C. The charcoal effect in Boreal forests: mechanisms and ecological consequences. **Oecologia**, v. 115, n. 3, p. 419-426, 1998.

SIQUEIRA NETO, M., PICCOLO, M. D. C., SCOPEL, E., COSTA JUNIOR, C. D., CERRI, C. C.; BERNOUX, M. Carbono total e atributos químicos com diferentes usos do solo no Cerrado. **Acta Scientiarum Agronomy (Online)**, v.31, n.4, p. 709-717,2009.