



Universidade de Brasília

Faculdade UnB Planaltina

Licenciatura em Ciências Naturais

**MONITORAMENTO DA ATIVIDADE DA B-
GLUCOSIDASE E DO CARBONO DA BIOMASSA
MICROBIANA DE UM LATOSSOLO VERMELHO
AMARELO DE CERRADO SOB PLANTIO DIRETO
E CONVENCIONAL**

Autora: Lídia Corrêa da Costa Sarmanho

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo José de Miranda Filho

Planaltina - DF

Junho 2015



Universidade de Brasília

Faculdade UnB Planaltina

Licenciatura em Ciências Naturais

**MONITORAMENTO DA ATIVIDADE DA B-
GLUCOSIDASE E DO CARBONO DA BIOMASSA
MICROBIANA DE UM LATOSSOLO VERMELHO
AMARELO DE CERRADO SOB PLANTIO DIRETO
E CONVENCIONAL**

Autora: Lídia Corrêa da Costa Sarmanho

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo José de Miranda Filho

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Examinadora, como exigência parcial para a obtenção de título de Licenciado do Curso de Licenciatura em Ciências Naturais, da Faculdade UnB Planaltina, sob a orientação do Prof. Dr. Reinaldo José de Miranda

Planaltina - DF

Junho 2015

Dedico este trabalho a todos que contribuíram antes e durante para a realização deste trabalho de conclusão de curso (TCC). Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por tudo que Ele me proporciona a cada dia e por ter me dado todas as condições para terminar este trabalho. Minha família, principalmente minha mãe, meus irmãos, tios e primos por toda confiança, força e apoio para a realização dos meus sonhos. Meus orientadores por terem me ajudado a executá-lo, sem eles esse trabalho não seria possível, obrigada de coração! Obrigada aos meus amigos Thaís Hall, Lara Sady, André Petrucci, Fernando Martins, Tácito Trindade, Jule Smitten, Nick Kobold e toda a galera do Laboratório de Microbiologia da Embrapa por escutar minhas angústias, me acalmar, me dar forças, dicas além de aturar as minhas cantorias e outras várias pessoas que somaram muito nessa minha realização. Obrigada também a instituição, Faculdade UnB Planaltina, que me proporcionou a formação no ensino superior.

MONITORAMENTO DA ATIVIDADE DA β -GLUCOSIDASE E DO CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA DE UM LATOSSOLO VERMELHO AMARELO DE CERRADO SOB PLANTIO DIRETO E CONVENCIONAL

Lídia Corrêa da Costa Sarmanho¹

RESUMO

O trabalho apresenta o monitoramento de 13 anos do carbono da biomassa microbiana (CBM) e da enzima β -Glucosidase (ciclo do C), em três áreas adjacentes sob plantio direto (PD), convencional (PC) e cerrado num Latossolo Vermelho-Amarelo argiloso. O experimento começou em 1992 e o monitoramento em 1999. Na fase 1 (1999 a 2003) as amostras foram coletadas na profundidade de 0 a 5 cm e na fase 2 (a partir de 2004) na profundidade 0 a 10 cm. Em média, na fase 1 a atividade da β -Glucosidase no PD foi 2,8 vezes superior à do PC e cerrado. Na fase 2 a magnitude dessas diferenças caiu para 1,7 vezes. Na fase 1 a diferença entre o CBM do PD e PC foi de 1,9 vezes, enquanto na fase 2 foi de 1,4 vezes. Em relação ao cerrado, houve reduções no CBM nas duas áreas cultivadas. A comparação entre três as áreas revela que o PD favorece o acúmulo de CBM e influencia a ciclagem de C devido ao não revolvimento do solo.

Palavras-chave: β -Glucosidade, bioindicadores, qualidade do solo, carbono da biomassa microbiana.

ABSTRACT

This paper presents the monitoring of 13 years of microbial biomass carbon (MBC) and the β -Glucosidase enzyme (C cycle), in three adjacent areas under the tillage (PD), Conventional (PC) and Brazilian Savanna (Cerrado) in a clayey red yellow latosol. The experiment started in 1992 and the monitoring in 1999. In the phase 1 (1999 - 2003) the samples were collected in the depth 0-5 cm and in the phase 2 (from 2004) in the depth 0-10 cm. On average, in phase 1 the β -Glucosidase in PD activity was 2,8 times higher than the PC and Cerrado. In the phase 2 the magnitude of these differences fell to 1,7 times. In the phase 1 the difference between the MBC of PD and PC was of 1,9 times, while in the phase 2 was 1,4 times. Regarding the Cerrado, there was a reduction in MBC in the two cultivated areas. The comparison between the three areas reveal that the PD favors the accumulation of MBC and have an effect on the cycling of C due to the non soil revolving.

Keywords: β -Glucosidase, bioindicators, soil quality, microbial biomass carbon.

É crescente a relevância do tema “Qualidade do Solo”, em perspectiva ao aumento das atividades e necessidades antrópicas. Em âmbito geral, associa-se a qualidade de um solo a sua produtividade, o que é constatado historicamente devido ao nosso modelo de produção e, a forte demanda por novas tecnologias que aumentem a eficiência econômica na relação uso e rendimento. Porém, o tema é ainda mais amplo, englobando serviços ambientais, tais como a ciclagem de nutrientes e produção de biomassa, fundamentais para a manutenção e o equilíbrio dos ecossistemas. De acordo com Doran e Parkin (1994), a qualidade do solo está relacionada à sua capacidade de funcionar dentro dos limites dos ecossistemas para: (i) sustentar a produtividade

¹ Graduanda do curso de Licenciatura em Ciências Naturais – Universidade de Brasília – UnB – Campus Planaltina. E-mail: lidia.sarmanho@gmail.com

biológica; (ii) manter a qualidade da água e do ar e (iii) promover a saúde humana, de plantas e de animais.

A variedade de fatores que controlam os processos biogeoquímicos e suas mudanças em função do tempo e do espaço, aliados à complexidade do solo, estão entre os fatores que atrapalham a capacidade de acessar a sua qualidade e identificar os parâmetros-chave que possam quadrar como bioindicadores. Por essa razão, um conjunto mínimo de indicadores que englobam atributos químicos, físicos e biológicos deve ser utilizado nas análises de qualidade de solo (Doran; Parkin, 1994), uma vez que nenhum indicador individualmente irá descrever e quantificar todos os aspectos da mesma. Pois ela pode ser quantificada a partir de um conjunto mínimo de atributos químicos, físicos, e biológicos integrados em um índice de qualidade do solo (IQS), constituindo de natureza diversa (Sands; Podmore, 2000).

Os microrganismos juntamente com a fauna (micro, meso e macro) e as raízes das plantas, constituem a fração viva da matéria orgânica do solo e podem ser utilizados como indicadores biológicos uma vez que estão intimamente relacionados ao funcionamento do solo, apresentando uma estreita inter-relação com os componentes físicos e químicos (Mendes et al., 2009). Para esses autores, o grande personagem responsável pelos serviços ambientais, como a: formação de solos, decomposição de resíduos, biorremediação de poluentes, ciclagem de nutrientes e formação de matéria orgânica, são os microrganismos. Por participar de grandes eventos como os citados, que os microrganismos se tornam um dos potenciais bioindicadores para a qualidade de solo, por isso a grande necessidade de estudá-los e conhecê-los melhor para determinar os mais apropriados e sensíveis às mudanças complexas do sistema de solo. O uso de indicadores microbiológicos pode ser visto como um componente importante dos estudos envolvendo a avaliação da qualidade dos solos agrícolas, devido à sua sensibilidade para detectar, em etapa anterior em comparação a outros parâmetros físicos e químicos, alterações que ocorrem nesse ambiente em função do seu uso e manejo, seja ele mantenedor, melhorador ou degradador da qualidade (Doran, 1980; Dick, 1994; Matsuoka et al., 2003; Silva et al., 2009; Carneiro et al., 2009).

Dentre os parâmetros que mais têm sido avaliados nos estudos de indicadores microbiológicos destacam-se, a biomassa microbiana do solo, a atividade e diversidade microbiana e atividade enzimática (Matsuoka et al., 2003, Carneiro et al., 2004, Carneiro et al., 2008).

Os valores ideais para os bioindicadores podem variar conforme o tipo de solo, sistemas de manejo e condições climáticas. Santana & Bahia-Filho (1999) utilizaram o termo limite de sustentabilidade para separar a condição sustentável de não sustentável e propuseram dois enfoques para o estabelecimento de critérios de referências: 1) condição de solo nativo e 2) condições que maximizem a produção e conservem o meio ambiente. Além disso, os critérios de variação temporal podem ser adotados quando ocorre o acompanhamento de uma mesma área ao longo do tempo. Nesse caso, os valores determinados para os indicadores microbiológicos podem ser monitorados para se avaliar tendências ao longo do tempo. Tanto as avaliações comparativas usando as áreas de referências como, as avaliações temporais são complementares, pois permitem diferentes escalas de avaliação. Destes critérios de referência, o uso de áreas nativas

com mínimos impactos antropogênicos, tem prevalecido (Dick, 1994; Doran & Parkin, 1994; Trasar-Cepeda et al., 1998; Mendes et al., 2003).

No Brasil, e mesmo no cenário mundial, as pesquisas que avaliam o uso dos microrganismos como bioindicadores da qualidade dos solos são recentes. A produção acadêmica ainda é incipiente em face à potencialidade da temática, pelo impacto que novos conhecimentos na área e um melhor entendimento sobre o funcionamento dos processos microbiológicos – em especial nos solos do Cerrado. Na Embrapa Cerrados, as pesquisas nesse tema foram iniciadas em 1999. Até então muito pouco se sabia sobre o impacto dos diferentes tipos de sistemas agrícolas no funcionamento dos processos microbiológicos em solos de Cerrado. Nesse período, as avaliações se concentraram no carbono da biomassa microbiana (CBM) e na atividade de enzimas do solo relacionadas aos ciclos do C (β -Glucosidase), fósforo (fosfatase ácida) e enxofre (arilsulfatase).

Neste trabalho é apresentado o monitoramento de 13 anos do CBM e da atividade da enzima β -Glucosidase, em duas áreas adjacentes sob plantio direto e convencional num Latossolo Vermelho-Amarelo argiloso e uma área sob vegetação nativa de cerrado, que também foi incluída como referência das condições originais do solo. É de suma importância apresentar um acompanhamento desses bioindicadores a longo prazos, para que se possa entender a dinâmica microbiológica e o comportamento do solo, tendo em vista que o sistema de plantio direto, baseado principalmente na ausência de revolvimento do solo, começou a ser utilizado pelos produtores da região do Cerrado no início dos anos 1990 e hoje é adotado em mais de 50% da área cultivada com culturas anuais na região. A adoção desse sistema de manejo acarreta modificações significativas no funcionamento biológico do solo, pois esse sistema tem uma maior concentração da atividade microbiológica nas camadas superficiais.

Por tanto, dado a relevância do tema abordado, este projeto objetiva verificar o comportamento microbiológico do solo de uma área agrícola, a fim de compreender através de dois tipos de análises, (i) carbono da biomassa microbiana (CBM) e (ii) atividade da enzima β -Glucosidase, o funcionamento biológico do solo em diferentes sistemas de plantio. Assim como também descobrir qual é o sistema de plantio que mais mantém a atividade microbiológica, sendo assim um sistema de manejo mais sustentável; fornecer um estudo em longo prazo da atividade enzimática e da biomassa do solo, como sensíveis bioindicadores da qualidade do solo; realizar um histórico estatístico das análises com todos os dados das amostras de solo utilizadas para a pesquisa e verificar se a profundidade de coleta das amostras influencia os resultados.

O estudo foi realizado em uma área experimental localizada na Embrapa Cerrados, Planaltina-DF (15°36'34" S e 47°44'36" W), sob clima tropical quente e úmido, com temperatura média anual do ar de 21 ° C, variando de uma média de 17°C no inverno a uma média de 28°C na primavera e no verão. O solo dessa área é do tipo Latossolo Vermelho Amarelo Argiloso e o relevo da região é predominantemente plano. Os sistemas de plantio direto (PD) e plantio convencional (PC) foram iniciados em 1992/93 e os seus efeitos nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, vêm sendo monitorados desde 1999. O experimento consiste de 2 faixas com 320m de comprimento. A faixa sob PD possui 50m de largura, e a faixa sob PC 25m. Nas duas faixas o milho é cultivado em sucessão à soja. Demonstrado na Figura. 1.



Figura. 1. Imagem do Google Earth mostrando as três áreas estudadas: Plantio Direto (PD), Preparo Convencional (PC) e Cerrado.

O monitoramento deve início no ano de 1999 e as coletas foram sempre na fase de florescimento da cultura. As profundidades de amostragem foram diferentes durante todo o monitoramento, de 1999 a 2003 (Fase I) a profundidade de coleta foi de 0 a 5 cm, enquanto a partir de 2004 (Fase II) essa profundidade foi de 0 a 10 cm.

As amostras de solo foram homogeneizadas e acondicionadas em sacos plásticos, sendo armazenadas em geladeira (7° a 10° C) durante uma semana, quando foram iniciados os ensaios. A determinação do conteúdo de água do solo (umidade) foi efetuada pelo método gravimétrico, secando-se as amostras em uma estufa a 100° C durante 72 horas, antes e depois da limpeza dos resíduos vegetais, que é feita através do peneiramento das amostras recém-coletadas.

Os parâmetros avaliados para esse estudo foram: o Carbono da Biomassa Microbiana (CBM) que de 1999 a 2003 (Fase I) foi utilizado o método Clorofórmio-Fumigação-Incubação (CFI) e a partir de 2004 (Fase II), o método Clorofórmio-Fumigação-Extração (CFE), e a β -Glucosidase uma enzima do ciclo do C, que atua na fase final da decomposição da celulose (Tabatabai, 1994). Todas as análises foram realizadas no laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Cerrados, Planaltina-DF, desde 1999 pela orientação e supervisão da Doutora e pesquisadora Ieda de Carvalho Mendes.

A biomassa microbiana faz parte do componente vivo da matéria orgânica do solo (MOS) e representa de 1 a 4% do C total e 5% do N total do solo (Jenkinson & Powlson, 1976), é composta por bactérias, actinomicetos, fungos, algas e protozoários (Jenkinson & Ladd, 1981) que atuam não só no processo de intemperismo das rochas, formação e manutenção da estruturado solo, como também na decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes e degradação de alguns poluentes e metais pesados. Mendes et al.,2003 destaca, tendo em base este contexto, que todos os fatores que influenciam negativamente os microrganismos e beneficiam a perda da MOS, também ocasionam uma deterioração das propriedades químicas e físicas do solo.

A biomassa microbiana como componente lábil da fração orgânica do solo apresenta intenso poder de reciclagem e responde rapidamente às flutuações sazonais de umidade e temperatura, ao manejo de resíduos e cultivo dos solos (Gama-Rodrigues & De-Polli, 2000), sendo assim é possível notar o potencial para um sensível bioindicador de mudanças nos teores totais de matéria orgânica do solo as alterações na MOS poderão ser percebidas antes mesmo que nas propriedades físicas e químicas do solo.

Foram utilizados dois tipos de metodologias para a determinação do CBM durante o monitoramento, o método Clorofórmio-Fumigação-Incubação (CFI), proposto por Jenkinson & Polwson (1976), no qual a biomassa microbiana foi estimada com base na diferença do fluxo de CO_2 de amostras de solo fumigadas com clorofórmio (F) e não fumigadas (NF). Depois da coleta no campo, as amostras foram pesadas (20g), as fumigadas, em béqueres de 50mL e as não fumigadas em potes de vidro de 500mL, o teor de umidade das amostras foi ajustado, posteriormente as amostras foram pré-incubadas, no escuro, por sete dias, à temperatura ambiente (27°C). No quinto dia de pré-incubação, metade das amostras foi fumigada por 48 horas em um dessecador acoplado a uma bomba a vácuo, contendo uma placa de Petri com pérolas de vidro e 25 mL de clorofórmio isento de álcool. Durante esse período, as amostras NF foram mantidas à temperatura ambiente. Depois da fumigação, o clorofórmio foi retirado do dessecador e possíveis resíduos, nas amostras fumigadas foram eliminados realizando 4 evacuações com uma bomba a vácuo. Feita essa operação, as amostras F e NF foram transferidas para recipientes herméticos (500 mL de capacidade), contendo um frasco de vidro com 10 mL de KOH 0,3M e, incubadas, no escuro, por dez dias, à temperatura ambiente. A quantidade de CO_2 liberada do solo foi determinada depois da titulação com HCl 0,1M com o uso de fenolftaleína 1% como indicador. Antes da titulação, foram adicionados 3mL de BaCl_2 20%. O carbono na biomassa foi determinado pela diferença entre CO_2 evoluído das amostras F e NF, no período de 10 dias depois da fumigação, utilizando-se um fator de correção (Kc) de 0,41 (Anderson & Domsch, 1978). Demonstrada na Figura. 2.

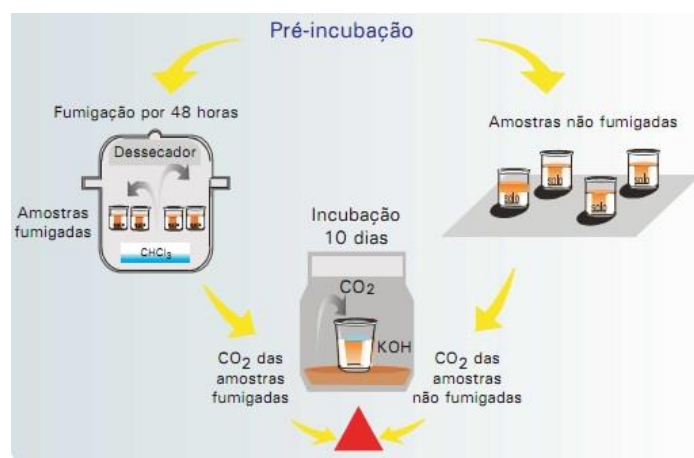


Figura. 2. Esquema da determinação do carbono da biomassa microbiana pelo método CFI.

A partir de 2004 foi realizado o método Clorofórmio-Fumigação-Extração (CFE), onde as amostras de solo são pré-incubadas e fumigadas conforme descrito para o método CFI. Após a fumigação, é feita a extração do C nas amostras F e NF,

adicionando-se 50 mL de K_2SO_4 mol L^{-1} às amostras do solo (10g), que são posteriormente submetidas à agitação horizontal (150 rpm) por 30 minutos. Em seguida, o material é filtrado para que seja feita a determinação do C por dicromatometria, seguida de titulação com sulfato ferroso amoniacal. A determinação do carbono é utilizada para a estimativa da biomassa microbiana, segundo a fórmula: $(mg\ C\ de\ solo\ fumigado - mg\ C\ de\ solo\ não\ fumigado) / K_{ec}$. O K_{ec} representa a quantidade de carbono proveniente da biomassa microbiana que é extraída com K_2SO_4 após a fumigação. Demonstrada na Figura. 3.



Figura. 3. Esquema da determinação do carbono da biomassa microbiana pelo método CFE.

Apesar dos métodos CFI e CFE serem os mais usados atualmente nas rotinas laboratoriais, estes apresentam limitações, vantagens e desvantagens. O método CFI tem limitações quando utilizado em solos ácidos e solos onde houve adição recente de material orgânica (Tate et al., 1988; Powelson, 1994; Martens, 1995). Sendo assim, o método CFE vem sendo proposto com o objetivo de superar tais dificuldades do método CFI aumentando a sensibilidade aos resultados, porém para que isso ocorra se utiliza extratores tóxicos de carbono, como o dicromato de potássio.

Dentre as inúmeras funções que os microrganismos possuem, uma delas é ser responsável pela produção de enzimas extracelulares que degradam substâncias de elevado peso molecular formando assim compostos mais simples. As fontes de enzimas para o solo podem vir, além das células metabolicamente ativas, da morte dos microrganismos com consequente lise celular, dos vegetais e da fauna (Burns, 1986). O que faz uma enzima ficar mais estável e menos susceptível a degradação é ela ser metabolizada pelos microrganismos ou se associar aos colóides presentes no solo.

Segundo Araújo & Monteiro (2007), a atividade enzimática do solo está inter-relacionada com a matéria orgânica, com as propriedades físicas e químicas e com a atividade e biomassa microbiana podendo funcionar como um bom indicador de mudanças na qualidade do solo e envolver metodologias simplificadas.

Dentre os fatores que influem na atividade enzimática do solo estão a concentração do substrato, o nível de umidade, a temperatura e o pH do solo (Silva et al., 1995; Arunachalan & Melkania, 1999). Geralmente, dependendo dos valores de pH

pode ocasionar uma diminuição ou até mesmo a inibição da atividade enzimática, pois muitas enzimas exigem um pH ideal para atingir sua atividade máxima. Outra forte influência que a atividade metabólica do solo sofre é a da presença das raízes e materiais orgânicos em decomposição. Existe uma atividade microbiana muito intensa na rizosfera, ocasionada à existência de secreções radiculares e exsudatos que irão fornecer grande parte da fonte de nutrientes prontamente disponíveis para os microrganismos (Grayston & Jones, 1996).

A β -Glucosidase é uma enzima de presença relevante nos solos que pode ser encontrada em plantas, animais e microrganismos, responsável por catalisar as reações de hidrólise da maltose e da celobiose, cujos produtos são importantes fontes de energia para os microrganismos do solo (Tabatabai, 1994).

De forma geral, a avaliação da atividade enzimática é muito importante para entender uma série de processos ocorridos no solo, inclusive para o conhecimento e monitoramento das atividades poluidoras e degradadoras do solo (Margesin et al., 2000; Taylor et al., 2002).

Para analisar a atividade enzimática do solo será avaliada a atividade associada ao ciclo do carbono (β -Glucosidase), utilizando os métodos descritos por Tabatabai (1994). Esse método se baseia na determinação colorimétrica do p-nitrofenol (coloração amarela) formado após a adição do substrato incolor específico para essa enzima, chamado PNS. Para cada amostra de solo, foram realizadas 3 repetições analíticas no laboratório. A atividade enzimática do solo é expressa em μg p-nitrofenol liberado por grama de solo seco por hora. Demonstrada na Figura. 4.



Figura. 4. Esquema da atividade enzimática do solo

Os resultados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC ANOVA do pacote estatístico SAS 9.1. Quando o teste F detectou significância estatística o teste de Tukey (t) ($p < 0,05$) foi utilizado para distinção das médias.

As diferenças entre as áreas avaliadas foram maiores na Fase I (0-5cm) do que na Fase II (0-10cm). Esse efeito está relacionado à estratificação das propriedades microbiológicas no perfil do solo, quando da ausência do revolvimento deste.

Em média, na Fase I os níveis de atividade da β -Glucosidase na área sob PD foram 2,8 superiores aos do PC e cerrado. Na Fase II a magnitude dessas diferenças caiu para 1,7 vezes. Esse resultado está relacionado ao fato de que o menor revolvimento do solo no PD permite o acúmulo, em sua superfície, de resíduos vegetais de menor complexidade que servem de substrato para a atuação dessa enzima (Mendes et al., 2003). A Atividade dessa enzima no solo é controlada não só pela quantidade como também pela qualidade da serapilheira (Bandick & Dick, 1999). Sendo assim, em locais onde a complexidade do resíduo vegetal é elevada (cerrado nativo) sua atividade é baixa e em locais onde a complexidade dos resíduos vegetais que retornam ao solo é menor (áreas agrícolas) sua atividade tende a ser maior (Matsouka et al., 2003).

Ao longo dos 13 anos de monitoramento, nas três áreas, as diferenças obtidas com a enzima β -Glucosidase foram mais acentuadas. Demonstrada no Gráfico. 1.

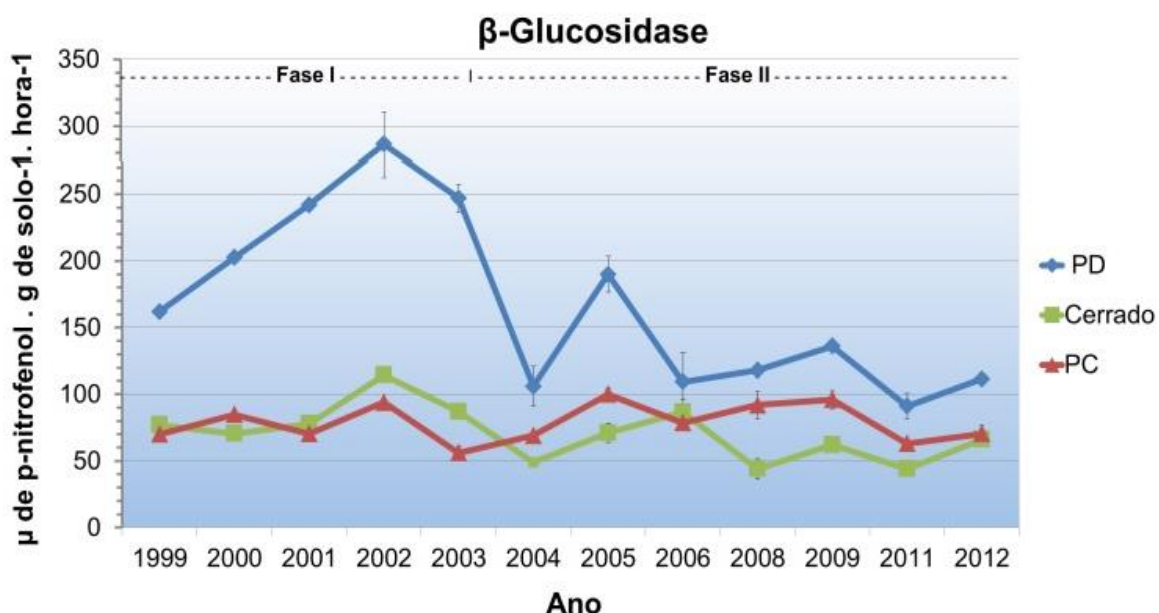


Gráfico. 1. Representação gráfica da atividade enzimática do solo durante 13 anos.

Nas áreas nativas, a ausência de revolvimento do solo resulta no acúmulo de material orgânico na sua superfície, na maior presença de hifas fúngicas e raízes finas que, através da liberação de exsudatos radiculares, favorecem o desenvolvimento dos microrganismos e conseqüentemente, a ocorrência de uma maior biomassa microbiana (Matsuoka et al., 2003; Mendes et al., 2003). Na Fase I a diferença entre o CBM das áreas sob PD e PC foi de 1,9 vezes, enquanto na Fase II foi de 1,4 vezes. Esses resultados evidenciam o efeito positivo da ausência de revolvimento do solo no PD sobre o CBM. Em relação ao cerrado, houve reduções no CBM nas duas áreas cultivadas. Demonstradas no Gráfico. 2.

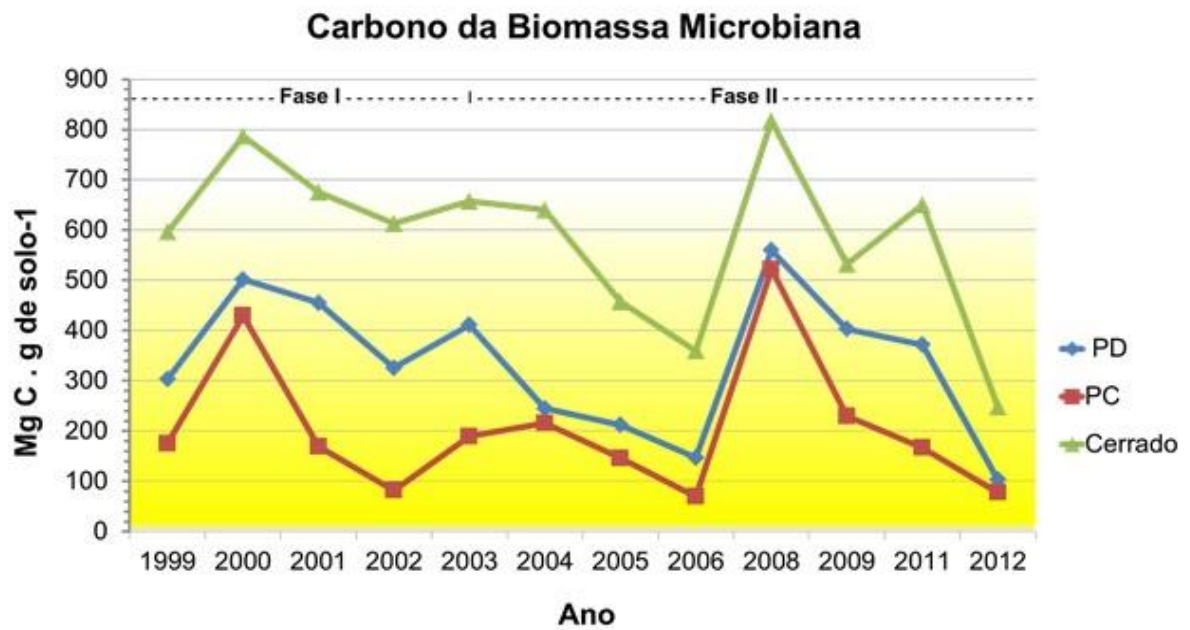


Gráfico. 2. Representação gráfica do CBM durante 13 anos.

A adoção do Plantio Direto promoveu o acúmulo de matéria orgânica e nutrientes nos 10 cm iniciais do solo e a ocorrência de maiores níveis de CBM e atividade enzimática, em relação a área manejada sob Plantio Convencional acarretando assim modificações significativas no funcionamento biológico do solo, com uma maior concentração da atividade microbiológica nas camadas superficiais.

O Monitoramento revelou que a atividade da β -Glucosidase apresenta mais sensibilidade para diferenciar agrossistemas sendo assim um potencial bioindicador de qualidade do solo.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, J. P.; DOMSCH, K. H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 10, p. 215-221, 1978.
- ARAUJO, A. S. F. & MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, 2007.
- ARUNACHALAN, A. & MELKANIA, N. P. Influence of soil properties on microbial populations, activity and biomass in humid subtropical mountains ecosystems of India. **Soil Bio. Biochem.**, 30: 217-223, 1999.
- BANDICK, A. K. & DICK, R. P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry**, oxford, v. 31, n. 11, p. 1471-1479, 1999.
- BURNS, R. G. Interactions of enzymes with soil mineral and organic colloids. In: HUANG, P. M.; SCHNITZER, M. Interactions of soils minerals with natural organics and microbes. Madison. **Soil Science Society of America**. p. 429-451. 1986.
- CARNEIRO, M.A.C.; ASSIS, P.C.R.; MELO, L.B. de C.; PEREIRA, H.S.; PAULINO, H.B.; SILVEIRA NETO, A.N. da. Atributos bioquímicos em dois solos cerrado sob diferentes sistemas manejo e uso. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.38, p.276-283, 2008.
- CARNEIRO, R. G.; MENDES, I. C.; LOVATO, P. E.; CARVALHO, A. M. **Dinâmica de variáveis biológicas associadas ao ciclo do fósforo em solo de cerrado sob diferentes sistemas de manejo**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2009. 5p. (Embrapa Cerrados. Pesquisa em Andamento, 36).
- CARNEIRO, R. G.; MENDES, I. C.; LOVATO, P. E.; CARVALHO, A. M. Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, DF, v. 39, n. 7, p. 661-669, 2004.
- DICK, R. P. Soil enzymes activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (Ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 107-124. (Special Publication 35).
- DORAN, J. W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, p. 765-771, 1980.
- DORAN, J. W.; PARKIN, T. B.; Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A.; ed. Defining soil quality for a sustainable environment. **Soil Science Society of America**, p. 107-124, 1994.
- GAMA-RODRIGUES, E.F. & DE POLLI, H. **Biomassa na ciclagem de nutrientes**. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 24º Reuniao Brasileira sobre micorrizas, 8º Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo, 6º

Reunião Brasileira de Biologia do Solo, 3. Santa Maria, Anais... Santa Maria: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2000. CD-ROM.

GRAYSTON, S. J. & JONES, D. V. D. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with an annual plant: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 5, n. 1. P. 29-56, 1996.

JENKINSON, D. S.; POLWSON, D. S. The effect of biocidal treatment on metabolism in soil. V. A method of measuring soil biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 8, p. 209-213, 1976.

JENKINSON, D.S & LADD, J.N. Microbial biomass in soil: Measurement and turnover. In: PAUL, E.A. & LADD, J.M. eds. Soil biochemistry, vol.5. New York, Marcel Decker, 1981. p.415-471.

MARGESIN, R.; ZIMMERBAUER, A. & SCHINNER, F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. **Chemosphere**, 40: 339-346, 2000.

MARTENS, R. Current methods for measuring microbial biomass C in soil: potentials and limitations. **Biol. Fertil. Soils**, Berlin, v. 19, p. 87-99, 1995.

MATSUOKA, M.; MENDES, I. C.; LOUREIRO, M. F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais 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.

MENDES, I. C.; SOUZA, L. V.; RESCK, D. V. S.; GOMES, A. C.; Propriedades biológicas em agregados de um Latossolo Vermelho-Escuro sob plantio convencional e direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 435-443, 2003.

MENDES, I. de C.; HUNGRIA, M.; REIS-JUNIOR, F.B. dos; FERNANDES, M.F.; CHAER, G.M.; MERCANTE, F.M. e ZILLI, J.E. Bioindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade? Planaltina-DF, Embrapa Cerrados, 2009. 31p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 246).

POWLSON, D. S. **The soil microbial biomass: before, beyond and back**. In: RITS, K.; DIGHTON, J & GILLER, K. E. Beyond the biomass. BSSS, Wiley-Sayce, 1994.

SANDS, G. R.; PODMORE, T. H.; A generalized environmental sustainability index for agricultural systems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 79, p. 29, 2000.

SANTANA, D. P.; BAHIA-FILHO, A. F. C. Indicadores de qualidade do solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA DO SOLO, 27., 1999, Brasília. **Resumos...** Brasília: Embrapa Cerrados; UnB, 1999. CD-ROM.

SILVA, L. G.; MENDES, I. C.; REIS JR, F. B.; FERNANDES, M. F.; MELO, J. T.; KATO, E.; Atributos físicos, químicos e biológicos de um Latossolo de cerrado em plantio de espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 613-620, 2009.

SILVA, T.; MELO, W. J.; TEIXEIRA, S. T.; LEITE, S. A. S. & CHELI, R. A. **Efeito do lodo de esgoto contaminado com doses crescente de cromo sobre a atividade enzimática do solo.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 15., Viçosa, 1995. Anais. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 2325-2330, 1995.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; SCOTT, A.; BOTTOMLEY, P. J. (Ed.). **Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties.** Madison: Soil Science Society of America, 1994. Part 2, p. 778-835. (Special Publication, 5).

TATE, K. R.; ROSS, D. J. & FELTHAM, C. W. A direct extraction method to estimate soil microbial C: effects of experimental variables and some different calibration procedures. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 20 (3): p. 329-335, 1988.

TAYLOR, J. P.; WILSON, B.; MILLS, M. S. & BURNS, R. G. 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.

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, C.; GIL-SOTRES, F.; SEOANE, S. Towards a biochemical quality index for soils: An expression relating several biological and biochemical properties. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 26, p. 100-106, 1998.