UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE RONDONÓPOLIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

WLLY CRISTINY MENDES DE OLIVEIRA

QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO SOB PASTAGEM DE *Brachiaria brizantha* EM PROCESSO DE RECUPERAÇÃO COM CINZA VEGETAL

Rondonópolis – MT
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE RONDONÓPOLIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

WLLY CRISTINY MENDES DE OLIVEIRA

QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO SOB PASTAGEM DE *Brachiaria brizantha* EM PROCESSO DE RECUPERAÇÃO COM CINZA VEGETAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Mato Grosso, Câmpus de Rondonópolis, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola.

Orientador: Prof. Dr. Salomão Lima Guimarães

Rondonópolis – MT
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

O48q Oliveira, Willy Cristiny Mendes de.
Qualidade biológica do solo sob pastagem de Brachiaria brizantha em processo de recuperação com cinza vegetal / Willy Cristiny Mendes de Oliveira. -- 2019
99 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Salomão Lima Guimarães.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Rondonópolis, 2019.
Inclui bibliografia.

1. Atividade microbiana. 2. enzimas do solo. 3. recuperação de pastagem. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO-GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA
Avenida dos Estudantes,5055 - Cidade Universitária, - CEP: 78736-900 - Rondonópolis/MT
Tel.: (66) 3410-4121 - E-mail: spgeagri@hotmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO SOB PASTAGEM DE *Brachiaria brizantha* EM PROCESSO DE RECUPERAÇÃO COM CINZA VEGETAL"

AUTORA: Mestranda Wlly Cristiny Mendes de Oliveira.

Dissertação defendida e aprovada em 26 de fevereiro de 2019.

Presidente da Banca / Orientador(a): Doutor Salomão Lima Guimarães.
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Examinador Interno: Doutora Edna Maria Bonfim da Silva.
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Examinador Externo: Doutor Hilton Morbeck de Oliveira.
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Examinador Externo: Doutora Daniela Tiago da Silva Campos.
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Rondonópolis, 26 de fevereiro de 2019.

Aos meus amados pais José Carlos e Idailza, a minha irmã Camilla e aos meus avós Jonas, Maria, Ondino e Ozani (*in memoriam*).

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Nossa Senhora, que se fizeram presentes em minha vida, intercedendo por mim e por minhas escolhas.

A minha família, que torceu, orou, apoiou e comemorou cada sonho e metas alcançados por mim.

À Universidade Federal do Mato Grosso – Câmpus de Rondonópolis, MT, mais especificamente ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola.

Ao meu orientador Prof. Dr. Salomão Lima Guimarães pela confiança depositada sobre mim para condução desta pesquisa, pelo respeito, por sua amizade e pelo companheirismo durante esses dois anos de trabalho duro.

À professora Dr.ª Edna Maria Bonfim-Silva, pela disponibilidade em auxiliar sempre que necessário.

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola professor Dr. Tonny José Araújo da Silva pela dedicação ao programa e aos seus discentes.

As minhas amigas, Camila Rueda e Paula Lima que em todo momento me apoiaram, compartilharam sorrisos e alegria, dividiram suas inseguranças e medos durante esse longo percurso.

Aos colegas da pós-graduação, Myllena, Priscilla, José Roberto, Ícaro, Júlio, Juan, Thiago, William, Juliane, Denise e Wellington.

A Paula Fabrícia Campos pela ajuda em adquirir os materiais necessários para as análises em laboratório.

Aos estagiários, Clara e Christian pelo auxilio durante a condução de cada análise realizada no Laboratório de Meio Ambiente, sem eles o trabalho seria mais difícil.

Ao grupo de Microbiologia, Phellype, Caroline, Giovani, Tatyane, Dhiego e Henrique pela ajuda prestada.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Prof. Dr. Márcio Koetz, Prof. Dr. Helon Hébano, Prof. Dr. Einstein, Prof. Dr. Carlos Caneppele e Prof. Dr.ª Analy Castilho pelo conhecimento repassado.

À Prof. Dr.ª Daniela Campos e ao estagiário Marcos, do Laboratório de Microbiologia do câmpus de Cuiabá, por toda ajuda durante as análises.

À CAPES pelo apoio financeiro para o desenvolvimento dessa pesquisa.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização dessa formação.

A todos meu sincero obrigado!

“Cada sonho que você deixa para trás, é um pedaço do seu futuro que deixa de existir.”

(Steve Jobs)

QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO SOB PASTAGEM DE *Brachiaria brizantha* EM PROCESSO DE RECUPERAÇÃO COM CINZA VEGETAL

Resumo: A degradação é causada por processos que resultam na redução ou perdas de recursos naturais e desequilíbrio do ecossistema. Visando promover a recuperação de uma área em degradação, faz-se necessário encontrar o equilíbrio entre os meios biótico e abiótico. Desse modo, objetivou-se avaliar a atividade microbiana e enzimática do solo sob uma área de pastagem em processo de recuperação com cinza vegetal. O experimento foi realizado no Instituto Mato-grossense do Algodão, no município de Rondonópolis, MT. Coletou-se amostras de solo na profundidade de 0-10 cm, em área que recebeu manejo de adubação com doses de cinza vegetal e formas de aplicação, seguindo um delineamento em blocos casualizados, esquema fatorial 6x2, correspondente a seis doses de cinza vegetal (0; 3; 6; 9; 12 e 15 t ha^{-1}) e dois manejos de aplicação da cinza (incorporado e não incorporado), com arranjo em faixas, totalizando 12 tratamentos e 4 repetições. Como referência, foram coletadas quatro amostras de solo em área de mata nativa. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos logo após a coleta e mantidas a 4°C até o início das análises. Foram avaliados atributos microbiológicos e bioquímicos do solo, como carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, respiração basal, fungos e bactérias totais, bactérias diazotróficas e atividade enzimática (Fosfatase Ácida, β-glicosidase e Arilsulfatase). Os resultados foram submetidos à análise estatística por meio do software R, com análise de variância, teste de regressão para as doses de cinza e teste de Scott-Knott para o manejo de aplicação ao nível de significância de 5% de probabilidade de erro. Das análises realizadas, houve interação significativa entre os fatores para respiração basal e enzima fosfatase ácida, com o melhor tratamento para a dose de 15 t ha^{-1} sem incorporação. Para a quantificação de bactérias diazotróficas e as enzimas arilsulfatase e β-glicosidase houve efeito isolado somente para as doses de cinza. O uso de cinza vegetal apresenta potencial para recuperação de pastagens em degradação, pois mantém a atividade enzimática e o crescimento microbiano do solo em níveis similares aos encontrados em mata nativa.

Palavras-chave: Atividade microbiana, enzimas do solo, recuperação de pastagem.

BIOLOGICAL QUALITY OF SOIL UNDER PASTURE OF *Brachiaria brizantha* IN PROCESS OF RECOVERY WITH VEGETABLE ASH

Abstract: Degradation is caused by processes that result in the reduction or loss of natural resources and ecosystem equilibrium. In order to promote the recovery of a degraded area, it is necessary to find the balance between the biotic and the abiotic means. In this way, the objective was to evaluate the microbial and enzymatic activity of the soil under a pasture area under recovery process with vegetal ash. The experiment was carried out at the Cotton Institute of Mato Grosso, in the municipality of Rondonópolis, MT. Soil samples were collected at a depth of 0-10 cm, in an area that received fertilization management with doses of vegetal ash and forms of application, following a randomized block design, factorial scheme 6x2, corresponding to six doses of vegetal ash (0; 3; 6; 9; 12 e 15 t ha^{-1}) and two treatments of ash (incorporated and non-incorporated), with a striped arrangement, totaling 12 treatments and 4 replicates. As a reference, four soil samples were collected in native forest area. The samples were stored in plastic bags immediately after collection and kept at 4 °C until the beginning of the analysis. Soil microbiological and biochemical attributes such as carbon and nitrogen from microbial biomass, basal respiration, fungi and total bacteria, diazotrophic bacteria and enzymatic activity (Acid Phosphatase, β-glycosidase and Arylsulfatase) were evaluated. The results were submitted to statistical analysis using software R, with analysis of variance, regression test for gray doses and Scott-Knott's test for the application management at a significance level of 5% of error probability. From the analyzes performed, there was a significant interaction between the factors for basal respiration and acid phosphatase enzyme, with the best treatment being the 15 t ha^{-1} dose without incorporation. For the quantification of diazotrophic bacteria and the enzymes arylsulfatase and β-glycosidase there was an isolated effect only for the gray doses. The use of vegetal ash presents potential for the recovery of degraded pastures, since it maintains the enzymatic activity and the microbial growth of the soil in levels similar to those found in the native forest.

Keywords: Microbial activity, soil enzymes, pasture recovery.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 19
2. REFERENCIAL TEÓRICO 21
2.1 Degradação de pastagens 21
2.2 Pastagens em Mato Grosso 22
2.3 Recuperação de pastagens 23
2.4 Cinza Vegetal 25
2.5 Indicadores de qualidade do solo 28
2.5.1 Indicadores físicos de qualidade do solo 29
2.5.2 Indicadores químicos de qualidade do solo 30
2.5.3 Indicadores biológicos de qualidade do solo 31
2.6 Atividade microbiana no solo 32
3. MATERIAL E MÉTODOS 34
3.1 Localização e caracterização do experimento 34
3.2 Delineamento experimental 36
3.3 Coleta e preparo das amostras 37
3.4 Variáveis analisadas 39
3.4.1 Carbono e Nitrogênio da biomassa microbiana 39
3.4.2 Respiração basal 45
3.4.3 Atividade enzimática 47
3.4.4 Bactérias diazotróficas 50
3.4.5 Bactérias e Fungos totais 52
3.5 Análise estatística 54
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 55
4.1.1 Bactérias Totais 58
4.1.2 Fungos Totais 61
4.1.3 Bactérias Diazotróficas 63
4.1.4 Carbono da Biomassa Microbiana 68
4.1.5 Nitrogênio da Biomassa Microbiana 71
4.1.6 Respiração Basal 73
4.1.7 Enzima Fosfatase Ácida 77
4.1.8 Enzima β-glicosidase 81

4.1.9 Enzima Arilsulfatase 83
5. CONCLUSÃ0 87
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização da área experimental (Google Earth, 2017) 34

Figura 2. Croqui da área experimental.....37

Figura 3. (A) Amostra composta e (B) Acondicionamento em saco plástico.....37

Figura 4. pH do solo em $CaCl_2$, em função das doses de cinza. IN- cinza incorpora, NIN- cinza não incorporada e MN- mata nativa.....38

Figura 5. pH do solo em $CaCl_2$, em função das doses de cinza. IN- cinza incorpora, NIN- cinza não incorporada e MN- mata nativa.....39

Figura 6. (A) Amostras de solo após pesagem, (B) Amostras em capela para evaporação do clorofórmio, (C) Amostras com solução de sulfato de potássio e (D) Filtragem do extrato.....40

Figura 7. (A e B) Amostras prontas para leitura e (C) Leitura sendo realiza em espectrofotômetro.....41

Figura 8. Amostras com concentrações conhecidas de NH_4 0-25mg.....42

Figura 9. Absorbância versus concentração de NH_4^+ L^{-1}.....42

Figura 10. (A) Solução antes da leitura, (B) Espectrofotômetro utilizado para ler a absorbância das amostras.....43

Figura 11. Amostras com concentrações conhecidas de Carbono 0-200 mg....44

Figura 12. Absorbância versus a concentração de carbono.....44

Figura 13. (A) solução de hidróxido de sódio sendo distribuída, (B) vedação dos vidros com papel plástico e (C) amostra pronta para ser incubada.....46

Figura 14. (A) 0,5g de solo em tubos de ensaio com rosca, (B) pesagem do substrato enzimático, (C) amostras de atividade enzimática, (D) amostras em banho-maria, (E) filtragem do sobrenadante e (F) espectrofotômetro.....48

Figura 15. (A) reagente p-nitrofenol, (B) solução estoque e (C) amostras com concentrações de p-nitrofenol pré-estabelecidas.....49

Figura 16. Absorbância versus concentração de p-nitrofenol.....49

Figura 17. Diluição seriada, ilustração retirada de Tortora et al. (2012) 50

Figura 18. (A) Diluição 1:10 sob agitação; (B) distribuição de 9 ml de solução salina em tubos de ensaio; (C) início da diluição e (D) diluição em tubos de ensaio.....51

Figura 19. (A) Agar sendo dissolvido em meio de cultura, (B e C) meios de cultura prontos, (D) meios distribuídos em vidros de penicilina, (E) amostras inoculadas em triplicata e (F) amostras após crescimento microbiano.....52

Figura 20. (A) Agar Nutriente utilizado para crescimento bacteriano, (B) Agar de glucose de batata utilizado para crescimento de fungos.....53

Figura 21. (A) inoculação da placa de petri com 0,1 mL da diluição e (B) espalhamento do inoculo sobre a placa com alça de Drigalski.....54

Figura 22. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias totais no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (7,58), obtido a partir da mata nativa local. *valores transformados para análise estatística.....59

Figura 23. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias totais no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (6,35), obtido a partir da mata nativa local. 59

Figura 24. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de fungos totais no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (4,75), obtido a partir da mata nativa local. *valores transformados para análise estatística.....61

Figura 25. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de fungos totais no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,98), obtido a partir da mata nativa local.....62

Figura 26. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura NFb no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,23) obtido a partir da mata nativa local.....64

Figura 27. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura NFb no solo sob área de pastagem em

dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,48) obtido a partir da mata nativa local.....65

Figura 28. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura JNFb no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (4,41) obtido a partir da mata nativa local. Ŷ= número de unidades formadoras de colônia, X= cinza vegetal, * significativo a 5% de probabilidade.....65

Figura 29. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura JNFb no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,63) obtido a partir da mata nativa local. Ŷ= número de unidades formadoras de colônia, X= cinza vegetal, * significativo a 5% de probabilidade.....66

Figura 30. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura JMV no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,40) obtido a partir da mata nativa local. Ŷ= número de unidades formadoras de colônia, X= cinza vegetal, * significativo a 1% de probabilidade.....67

Figura 31. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura JMV no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,34) obtido a partir da mata nativa local.....67

Figura 32. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o carbono da biomassa microbiana do solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado (IN) e não incorporado (NIN), no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (4.163,4 µg de C g^{-1} de solo) obtido a partir da mata nativa local. Teste Bonferroni a 5% de probabilidade.....69

Figura 33. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o carbono da biomassa microbiana do solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (4.281,46 µg de C g^{-1} de solo) obtido a partir da mata nativa local.....70

Figura 34. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o nitrogênio da biomassa microbiana do solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (0,76) obtido a partir da mata nativa local.....71

Figura 35. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o nitrogênio da biomassa microbiana do solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (0,71) obtido a partir da mata nativa local.....72

Figura 36. Efeito do manejo de aplicação sobre a respiração basal do solo sob área de pastagem, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (1.558,9 µC-CO_2 kg^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local. *significativo a 5% de probabilidade. IN- incorporado e NIN- não incorporado. Teste de Scott-Knott aplicado apenas na dose de 15 t ha^{-1}.....74

Figura 37. Efeito da aplicação de cinza vegetal não incorporada/incorporada ao solo sobre a respiração basal, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (1.558,9 µC-CO_2 kg^{-1} de solo h^{-1}), obtido a partir da mata nativa local. Ŷ=respiração basal, X= cinza vegetal, *significativo a 5% de probabilidade.....75

Figura 38. Efeito do manejo de aplicação sobre a respiração basal do solo sob área de pastagem, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (1.435,71 µC-CO_2 kg^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local.....76

Figura 39. Efeito do manejo de aplicação sobre a enzima fosfatase ácida no solo em área de pastagem, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (165,12 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local. *significativo a 5% de probabilidade. IN- incorporado e NIN- não incorporado. Teste de Scott-Knott aplicado apenas nas doses de cinza de 0 e 9 t ha^{-1}.....77

Figura 40. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima fosfatase ácida no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (165,12 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local.....78

Figura 41. Efeito do manejo de aplicação sobre a enzima fosfatase ácida no solo em área de pastagem, no período seco. Linha pontilhada vermelha

representa valor de referência (205,48 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local. *significativo a 5% de probabilidade. IN- incorporado e NIN- não incorporado. Teste de Scott-Knott aplicado apenas nas doses de cinza de 0 e 9 t ha^{-1}.....79

Figura 42. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima fosfatase ácida no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (205,48 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local.....80

Figura 43. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima β-glicosidase no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (601,58 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local.....81

Figura 44. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima β-glicosidase no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (407,38 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local.....82

Figura 45. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima arilsulfatase no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (66,01 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}), obtido a partir da mata nativa local. Log(y)= arilsulfatase, X= cinza vegetal, * significativo a 1% de probabilidade.....84

Figura 46. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima arilsulfatase no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (38,28 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}), obtido a partir da mata nativa local. Y= arilsulfatase, X= cinza vegetal, *significativo a 1% de probabilidade.....85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química e granulométrica de Neossolo Quartzarênico coletado da área experimental.....35

Tabela 2. Composição química da cinza vegetal analisada como corretivo e fertilizante para recuperação da área experimental.....35

Tabela 3. Resumo das análises de variância referente às variáveis Bactérias diazotróficas (NFB, JNFB e JMV), Bactérias totais (BAC), Fungos totais (FUNGO) e Respiração basal (RESP), no período chuvoso.....56

Tabela 4. Resumo das análises de variância referente às variáveis, Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), Carbono da biomassa microbiana (CBM) e as enzimas β-glicosidase (BETA), Arilsulfatase (ARIL) e Fosfatase ácida (FOS), no período chuvoso.....56

Tabela 5. Resumo das análises de variância referente às variáveis Bactérias diazotróficas (NFb, JNFb e JMV), Bactérias totais (BAC), Fungos totais (FUNGO) e Respiração basal (RESP), correspondente ao período seco.....57

Tabela 6. Resumo das análises de variância referente às variáveis, Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), Carbono da biomassa microbiana (CBM) e as enzimas β-glicosidase (BETA), Arilsulfatase (ARIL) e Fosfatase ácida (FOS), correspondente ao período seco.....58

1. INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca por apresentar uma vasta diversidade biológica, bem como a grande quantidade de fauna e flora difundidas em todo território nacional, afirmação esta, ligada aos diferentes biomas e recursos naturais presentes no país.

Mesmo sendo considerado um país rico e com abundância de recursos naturais, não impede que o uso demasiadamente exagerado, acabe resultando na degradação tanto do solo, quanto da flora local. Atualmente, com a expansão agrícola é cada vez mais comum a abertura de novas áreas, com o intuito de aumentar a produção, contudo esse avanço inadequado gera um desequilíbrio no ecossistema e na sua dinâmica natural, prejudicando todos os seus componentes: solo, fauna, flora, água e micro-organismos (SILVEIRA et al., 2015).

No país, as áreas degradadas são resultado de processos mal planejados, de ocupação e expansão do território nacional, mostrando que a exploração de novas áreas pode acarretar na destruição dos recursos naturais (MARTINS, 2009).

Áreas em processo de degradação, são situadas em regiões de difícil acesso, com baixa fertilidade natural (vistas como inadequadas para agricultura), e são destinadas ao uso da pecuária para formação de pastagem. Isto acaba gerando uma tradição de baixo investimento e uso de tecnologias de manejo nas pastagens brasileiras. Todavia, esse pensamento deve ser re-estruturado pelos pecuaristas, para que com a recuperação de suas áreas, além do benefício ambiental, sejam alcançados maiores índices de produção (DIAS-FILHO, 2014).

Partindo desta premissa, é função dos produtores identificarem áreas atingidas pelas atividades antrópicas e buscar restaurar o equilíbrio natural por meio da implantação de técnicas de recuperação adequadas, com auxílio de informações científicas (ALMEIDA et al., 2008). E para identificar o nível de degradação em que se encontram essas regiões, são comumente aplicadas técnicas que avaliam as características do solo, pois elas apresentam alterações perceptíveis quanto às mudanças ambientais.

Na agricultura, seja como meio de recuperação de pastagem ou não, o uso da cinza vegetal como corretivo de pH do solo vem se destacando cada vez mais. Em inúmeros estudos a cinza apresenta pH alcalino, e quando presente no solo libera íons Ca^{2+}, Na^{+}, Al^{3+} e íons de OH^{-} (PANDEY; SINGH, 2010; BEZERRA et al., 2016; BONFIM-SILVA, et al., 2017a). Além da sua utilização como adubo e corretivo, a capacidade de retenção de água no solo também é influenciada devido ao aumento da microporosidade do solo (SARKAR; RANO, 2007; AHMARUZZAMAN, 2010; BONFIM-SILVA, et al., 2017b).

Os benefícios gerados pelo uso da cinza vegetal atingem a comunidade microbiana presente no solo, uma vez que a atividade dos micro-organismos é rapidamente afetada pelas mudanças no manejo empregado no sistema agropecuário, bem como as variações que ocorrem no ecossistema (SANTOS; MAIA, 2013). Essas características fazem com que inúmeros pesquisadores, classifiquem os bioindicadores de qualidade do solo, como a forma mais rápida e eficaz de estudar e compreender todo funcionamento do solo e como está sendo sua resposta ao manejo aplicado. Quando utilizado em estudos de recuperação de áreas degradadas, podem indicar se o manejo proposto está influenciando a biota do solo e restabelecendo o equilíbrio ambiental daquele local.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a atividade microbiana e enzimática do solo sob uma área de pastagem em processo de recuperação com cinza vegetal.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Degradação de pastagens

Na pecuária brasileira predomina o uso de pasto para o suporte animal, caracterizando a criação extensiva, uma vez que a pastagem apresenta inúmeras vantagens ao produtor, como por exemplo, as condições climáticas favoráveis no país (MELLO et al., 2014), possibilitando baixo custo de produção e agregação no valor do produto final por não utilizar insumos como soja e milho na suplementação animal.

Entretanto no Brasil são comuns as situações em que o manejo da pastagem recebe um baixo investimento em tecnologias, que geralmente ocorrem onde a pecuária não é conduzida profissionalmente, como uma atividade econômica de caráter empresarial, isto é, onde a atividade, independentemente da grandeza do empreendimento pecuário, não é administrada de forma eficiente, responsável e racional (DIAS FILHO, 2017).

O equilíbrio do ecossistema é constantemente perturbado pela interferência e ações antrópicas mal planejadas, ocasionado a degradação e redução da qualidade ambiental (KASCHUK; ALBERTON; HUNGRIA, 2010). O Ministério do Meio Ambiente, por meio da Instrução Normativa nº 5/2009 define área degradada como uma área onde a vegetação, flora, fauna e/ou solo foram total ou parcialmente destruídos, removidos e expulsos, tendo alterados sua capacidade produtiva e qualitativa (MMA, 2009).

A degradação de pastagens é caracterizada por reduzir significativamente a produção de biomassa vegetal resultando na diminuição da produção pecuária, a área degradada é invadida por especies de plantas não palatáveis, sofre com o aumento de áreas descobertas, compactação do solo e redução da biomassa microbiana (BODDEY et al., 2004; DE OLIVEIRA et al., 2004; NESPER et al., 2015).

As causas mais importantes da degradação podem ser relacionadas também com o déficit de unidades conservadoras de material genético, mau uso

de práticas de correção do solo, utilização de práticas culturais que envolvam fogo, excesso de animais por área de pastagem e aumento de pragas e plantas invasoras (MACEDO et al., 2013). Os fatores que mais contribuem para a redução da produtividade e longevidade das pastagens são o super pastejo e o manejo incorreto da fertilidade do solo (INAES, 2015).

O Brasil possui extensas áreas de pastagens degradadas ou abandonadas (DIAS FILHO, 2014). Atualmente, existem no país, aproximadamente 200 milhões de hectares de pastagens nativas ou implantadas, dos quais estima-se que cerca de 130 milhões estejam degradados e necessitem de alguma intervenção para reverter o estado em que se encontram (EMBRAPA, 2018).

Independente do custo, é fundamental a recuperação de áreas degradadas, uma vez que as alterações das condições edáficas geram perturbações à biodiversidade e às atividades desenvolvidas da região (SILVEIRA et al., 2015).

2.2 Pastagens em Mato Grosso

O Brasil contempla em seu território seis Biomas distintos, são eles: Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Amazônia, Pantanal e Pampa. O estado de Mato Grosso destaca-se por ser o único estado brasileiro que abrange três biomas, Amazônia, Pantanal e Cerrado (CREA-MT, 2015).

O Cerrado brasileiro apresenta uma área de 203,4 milhões de hectares, o que constitui 24% do território nacional. Deste montante, 53 milhões de hectares são classificados como pastagens cultivadas, sendo responsável por 55% da produção de carne bovina do país (ANDRADE, et al., 2018). Mato Grosso por sua vez, possui o maior rebanho e área de pastagem do Brasil, aproximando-se a 26 milhões de UA e 22 milhões de hectares plantados com pastagem (SAMPAIO, 2016).

A pecuária extensiva, criação de animais a pasto, é base da economia do centro oeste brasileiro. O custo de produção atinge apenas US$4,00/kg, sendo

destaque mundial, como um dos menores custos de produção pecuária (ANDRADE, et al., 2015; BEEFWORLD, 2014).

Em termos de degradação, mais da metade das pastagens presentes no Cerrado apresentam algum grau de degradação. Estima-se que 32 milhões de hectares de pastagens estejam degradadas, correspondendo a 60% das pastagens no Cerrado. Esses dados de qualidade do pasto têm relação direta com a produtividade, saldo econômico e danos ambientais, levando estes três fatores a uma situação crítica no cenário do agronegócio brasileiro (EMBRAPA, 2014).

Atualmente, Mato Grosso apresenta em torno de 6,3 milhões de hectares ocupados por cultivo de lavouras e 22,1 milhões de hectares ocupados por pastagens (GIRARDI, 2016).

Alguns fatores são fontes de inúmeros problemas quando se trata da pecuária mato-grossense, como é o caso da degradação, baixo vigor das pastagens e a compactação do solo. Fatores que estão intimamente associados ao manejo inadequado da área. Na região de Rondonópolis por exemplo, a compactação e pastagens degradadas estão presentes em 72% e 60% das propriedades. Esses valores foram associados principalmente ao uso inadequado de implementos agrícolas, manejo e tecnologia da região (RAMOS e VITAL, 2016).

Vale ressaltar que cada bioma apresenta características de degradação diferentes e fatores distintos que geram essa degradação. No Cerrado mato-grossense o que caracteriza a degradação sofrida pelas pastagens locais são principalmente a perda de produtividade, resultante da escassez de água em determinados períodos do ano, e a baixa disponibilidade de nutrientes (EMBRAPA, 2014).

2.3 Recuperação de pastagens

Macedo (1999) define degradação de pastagens como sendo, um processo que caracteriza-se pela perda eminente de vigor, produtividade, capacidade de resiliência das forrageira e sua capacidade em manter níveis de produção para suprir as necessidades animais, tornando-se susceptíveis a

pragas, doenças e plantas invasoras, resultando na perda de recursos naturais tendo como causa principal, o manejo inadequado tanto da forrageira quanto do animal.

Dias-Filho (2011) por sua vez, caracteriza degradação de pastagens como sendo, um processo complexo, que se relaciona diretamente com causas e efeitos, resultando na diminuição continua da capacidade de suporte da pastagem.

A elevada exploração da pecuária vem acarretando o aumento de áreas de pastagens que se encontram degradadas ou em processo de degradação. Essa degradação gera esgotamento da fertilidade natural do solo, uma vez que, os nutrientes não são repostos, tornando-se um dos principais problemas quando se fala em degradação de pastagens (COSTA et al., 2009).

Além do esgotamento da fertilidade, gerada por manejos inadequados que não viabilizam o retorno e a maximização da ciclagem de nutrientes com a entrada desses nutrientes através da elevação da matéria orgânica (DIAS FILHO, 2011), existe também a degradação física do solo, onde a estrutura do solo é afetada pela compactação gerada pelo super pastejo, causando mudanças nos processos químicos e biológicos do solo, já que a movimentação da água, ar e nutrientes são afetados pela compactação (SOARES FILHO, 2009).

Quando a pastagem se encontra degradada ou em processo de degradação, duas medidas podem ser tomadas, renovação/estabelecimento ou recuperação da pastagem (ZIMMER et al., 2012).

Renovar uma pastagem consiste na eliminação total da população de forrageira presente na área, mediante revolvimento do solo ou aplicação de dessecantes, visando implantar nova espécie, independente do sistema de manejo utilizado, podendo ser via semente ou mudas (KICHEL et al., 2012).

A recuperação de pastagens ao contrario da renovação, não visa a substituição da espécie local, ela apenas faz uso adequado do manejo de adubação e calagem, com intuito de fornecer os nutrientes necessários para otimizar o potencial produtivo daquela forrageira (MACEDO, 2005).

A recuperação de pastagens pode ser aplicada através de dois métodos, direto e indireto. O método direto é aplicado em situações de baixo grau de degradação, utilizando práticas mecânicas e químicas sobre a pastagem. No

caso de áreas com elevado grau de degradação, o uso método indireto é o mais recomendado, fazendo uso de técnicas de consorciação da pastagem com outras culturas (AGUIRRE et al., 2014, RIBEIRO et al., 2007), e sistemas silvopastoril (NARANJO et al., 2012).

Dias-Filho (2015) destaca as principais estratégias de recuperação direta, como sendo, preparo do solo para controle de pragas e planta invasoras, preparo mínimo através de adubação e preparo total do solo. Reitera a importância da recuperação e sua influencia na redução de gastos com reformas nas pastagens, lembrando sempre que o clima e as condições do solo são quem ditaram as melhores formas de fazer o manejo do local.

As duas principais ações tomadas quando se opta pela recuperação da pastagem são, a calagem e a adubação. Podendo ser utilizada adubação corretiva, ou calagem associada com a adubação de macronutrientes como, NPK (nitrogênio, fósforo e potássio) de acordo sempre com a análise química do solo (SOARES FILHO et al., 1992).

Outra forma de recuperação de pastagens é a integração lavoura-pecuária (ILP), que consiste na associação de culturas anuais em sistemas de rotação ou consórcio com forrageiras. Essa prática resulta no reestabelecimento da produtividade da forrageira, apresentando custos baixos de recuperação e melhoras nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (MACEDO, 2009).

No caso do sistema silvopastoril, a recuperação ocorre através do plantio de arvores ou arbustos incorporados a pastagem degradada. As árvores são capazes de criar um microclima local e suas folhas diminuem o impacto das gotas da chuva no solo, diminuindo a erosão, além de suas raízes profundas influenciarem na translocação e perda de nutrientes no solo, favorecendo a absorção de nutrientes pelas plantas forrageiras e melhorar os atributos químicos, físicos e biológicos do solo (CASTRO et al., 2008).

2.4 Cinza Vegetal

A cinza vegetal é um produto resultante da queima de vegetais através da combustão incompleta e variável da madeira, sendo que sua composição

qualitativa e quantitativa dependente de algumas variáveis como a biomassa utilizada, a temperatura de carbonização – responsável pela maior ou menor sublimação dos componentes químicos – e da adoção ou não da requeima (ARRUDA et al., 2016).

Inúmeras alternativas para a destinação e reutilização das cinzas estão sendo pesquisadas, desenvolvidas e até mesmo praticadas. Entretanto, para sua utilização em larga escala um obstáculo deve ser superado, sua heterogeneidade, resultado da falta de padronização no processo de queima. Este é um fator que dificulta a sua utilização pela indústria, que necessita de uniformidade da matéria prima para ser utilizada em seus processos produtivos (SOUZA et al., 2007; CACURO, T. A.; WALDMAN, W. R., 2015).

Hoje no Brasil, as cinzas são resíduos comumente encontrados e utilizados como adubo em lavouras (LIMA et al., 2010). De acordo com Voundinkana et al. (1998), a cinza pode ser utilizada como corretivo de acidez do solo e adubo, desde que atenda a necessidade requerida pela cultura.

Em plantios agrícolas, a cinza vegetal tem importância na restituição de alguns dos nutrientes extraídos pelas culturas. A reciclagem das cinzas diminui a utilização de fertilizantes comerciais, contribuindo com a redução da acidificação do solo e com o aumento do suprimento de cálcio (PIVA et al., 2013).

Na agricultura, o uso da cinza como corretivo de pH do solo vem se destacando cada vez mais, pois em inúmeros estudos a cinza apresenta pH alcalino, e quando presente no solo libera íons $Ca^{2+,}$ Na^{+}, Al^{3+} e íons de OH^{-} (PANDEY; SINGH, 2010). Além da sua utilização como adubo e corretivo, a capacidade de retenção de água no solo também é influenciada devido ao aumento da microporosidade do solo (SARKAR; RANO, 2007; AHMARUZZAMAN, 2010).

Quando avaliado o uso da cinza vegetal como corretivo e fertilizante para os capins Marandu e Xaraés, Santos (2012) confirmou o potencial significativo da utilização da cinza como corretivo de solos ácidos do Cerrado mato-grossense e sua importância na restituição dos nutrientes removidos do solo por essas culturas. Assim como, características estruturais e produtivas do Capim-

Marandu foram afetas positivamente pela cinza vegetal (BONFIM-SILVA et al., 2011b; SANTOS, 2012; BONFIM-SILVA et al., 2013).

A utilização de cinza na agricultura mesmo sendo considerado por muitas pessoas ambientalmente correto (SARKAR; RANO, 2007), pois gera destinação aos resíduos até então descartados ou armazenados incorretamente, seu uso indiscriminado pode causar problemas, principalmente com a aplicação de doses excessivas (GOMES, 1968).

Jala e Goyal (2006) reiteram que a acumulação e a persistência dessas cinzas no solo não são consideradas, e que devido a sua lenta degradação, podem gerar um problema ambiental, devido a acumulação de componentes presentes nas cinzas que se em grandes quantidades apresentam toxicidade as plantas.

A realizar um dos primeiros estudos sobre o uso de resíduos das industrias de celulose em áreas florestais, Bellote et al. (1998) constataram que a cinza de caldeiras destas industrias aplicadas ao solo aumentava a atividade biológica, isto devido as evidências de elevada decomposição da serapilheira e a ciclagem de nutrientes estimadas após a aplicação dos resíduos.

Ao estudar a valorização do uso de cinza de bagaço de cana-de-açúcar na agricultura, Pita (2009) por sua vez, fez um alerta sobre o potencial agronômico desse material. Ele defendeu que a cinza é rica em minerais e que muitos metais se apresentam em concentrações variadas. Neste caso, seu uso indiscriminado pode afetar negativamente os atributos biológicos do solo, devido sua sensibilidade as alterações no meio.

Outros autores estudaram os impactos causados ao meio ambiente pelo uso de cinzas originadas de usinas termoelétricas. Eles encontraram substancias, como metais pesados, que podem afetar a velocidade de decomposição da matéria orgânica realizada pela microbiota do solo (PANDEY; SINGH, 2010; NAYAK et al., 2014).

Desse modo, faz-se necessário conhecer a composição química e a dose adequada desse resíduo para cada cultura, para que sua utilização se torne mais segura, evitando a toxidez nutricional e excesso de Ca e Mg que competem

diretamente com outros nutrientes por sítios ativos de absorção (LIMA et al., 2005).

2.5 Indicadores de qualidade do solo

A qualidade do solo não pode ser determinada diretamente, mas sim indiretamente pela averiguação de diversos fatores, denominados indicadores de qualidade. Deste modo, é possível caracterizar indicadores de qualidade do solo, como sendo, propriedades mensuráveis do solo ou da planta que estejam envolvidas em processos ou atividades que permitam caracterizar, avaliar e monitorar mudanças ocorridas no ecossistema (KARLEN et al., 1997; ARAUJO et al., 2012).

Os indicadores de qualidade precisam apresentar algumas características indispensáveis, como baixo custo de análise, simplicidade de interpretação e correlação com fatores que estejam presentes no sistema agrícola ou natural. Indicadores são necessários não somente como substitutos, refletindo a funcionalidade dos solos, mas também para orientar a recuperação de áreas degradadas (NUNES et al., 2012). Dentre os principais indicadores de qualidade, destacam-se três: físico, químico e biológico (NOGUEIRA; HUNGRIA, 2013).

Um solo saudável foi defino por Doran e Safley (1997), como sendo um organismo vivo, que funciona dentro dos limites impostos pelo ecossistema, sustentando a produtividade biológica, promovendo a qualidade do ar e da água e por fim possibilitando a saúde vegetal, animal e humana. Porém muitos solos não apresentam todos os quesitos para serem classificados como solos saudáveis, isso muitas vezes, ocasionado pelas atividades antrópicas que não fazem uso do solo de modo racional e sustentável.

A qualidade do solo por sua vez, é definida como sendo a capacidade do solo em armazenar e reciclar água, nutrientes e energia, assim como, reter e modificar materiais químicos e biológicos, desempenhando papel de filtro ambiental (JAHNEL et al., 1999).

Para avaliar a sustentabilidade do sistema de produção agrícola e das técnicas de manejo, os efeitos das mudanças sobre a capacidade do solo em manter e preservar a vida precisam ser monitorados e quantificados. Para isso, indicadores de qualidade do solo estão sendo utilizados e interpretados por pesquisadores com intuito de estabelecer a sua influência nas propriedades do solo (NOGUEIRA; HUNGRIA, 2013).

2.5.1 Indicadores físicos de qualidade do solo

Os sistemas de manejo empregado nos processos agropecuários e agrícolas, juntamente com o tempo de uso do solo e as condições edafoclimáticas local podem causar alterações na qualidade física do solo. Essas alterações podem ser mensuradas a partir de atributos que indicam a qualidade do solo, desde que sejam sensíveis ao manejo e em um intervalo que permita constatar alterações (D'ANDRÉA et al., 2002).

A curva de retenção de água é um dos principais indicadores de qualidade do solo, uma vez que, através da mesma é possível descrever a dinâmica de inúmeros atributos físicos do solo, como a porosidade, a capacidade de campo, o ponto de murcha permanente (VAN GENUCHTEN, 1980; DEXTER; BIRD, 2001; AVANZI et al., 2011) e a condutividade hidráulica (ANDRADE; STONE, 2009a, 2009b).

Sendo importante destacar que a qualidade da estrutura do solo, influenciará diretamente o desempenho das raízes (SILVA et al., 2008). Isso porque, sob áreas com elevados valores de resistência à penetração observou-se menor crescimento e produção de raízes, influenciando a absorção de nutrientes pelas raízes e posterior produção de biomassa na parte aérea nas plantas (COSTA et al., 2012).

Outros fatores classificados com atributos físicos do solo são a densidade, macro e microporosidade, estabilidade de agregados e conteúdo de água no solo, pois variam conforme alterações no manejo adotado e permitem monitorar a eficiência do sistema aplicado (PRAGANA et al., 2012).

Em áreas de pastagem é comum encontrar a porosidade e taxas de infiltração reduzidas devido ao pisoteio animal, super pastejo e manejo inadequado da área, ocasionando também o aumento da densidade e a intensificação de processos erosivos (MOREIRA et al., 2014; TORRES et al., 2014).

Ao estudar o efeito da compactação sobre as propriedades microbiológicas do solo, Pupin (2008) observou inibição do crescimento das populações de bactérias totais e nitrificantes e redução progressiva na atividade das enzimas desidrogenase e da fosfatase ácida em função da elevada densidade do solo gerada pela sua compactação.

2.5.2 Indicadores químicos de qualidade do solo

Os atributos químicos que indicam a qualidade do solo podem ser divididos em três classes: os que indicam processos ou comportamento do solo, os que indicam a resistência do solo às trocas catiônicas e necessidade nutricional da planta e por fim os que indicam contaminação ou poluição do solo. Destacando-se pH, Carbono Orgânico, tipo de argila, CTC, presença de N, P, K, micronutrientes, metais pesados, nitrato e fosfato no solo (GOMES; FILIZOLA, 2006).

A relação entre os atributos químicos e biológicos se mantem estreita, uma vez que a biomassa microbiana é considerada um reservatório de matéria orgânica presente no solo, e é diretamente influenciada pelas mudanças ocorridas nos fatores bióticos e abióticos que regem o ecossistema (MOREIRA; COSTA, 2004).

As principais mudanças sofridas pelos atributos químicos são em decorrência do tempo e da condução e manejo de cada sistema em uso. Desmatamento, rotação de culturas, uso indiscriminado de fertilizantes e incorporação de resíduos orgânicos fazem com que aumente a heterogeneidade do solo e que sistemas distintos aplicados numa mesma área apresentem variação nos atributos químicos do solo ((MILINDRO et al., 2016).

De maneira geral, com exceção do pH, os atributos químicos do solo apresentam maior variação que os físicos, sendo necessário uma análise mais criteriosa do solo e dos tratamentos avaliados (SILVA; CHAVES, 2001).

Se faz necessário a investigação das inúmeras interações dos micro-organismos nos processos ecológicos do solo, pois elas sofrem fortes influências decorrentes das alterações do pH, da umidade, da aeração, da temperatura e da disponibilidade de nutrientes orgânicos e inorgânicos e pelo efeito isolado ou somatório de dois ou mais fatores (PEREIRA et al., 2000).

2.5.3 Indicadores biológicos de qualidade do solo

As dimensões dos animais presentes no solo estão relacionadas diretamente com a sua capacidade em transportar, ingerir ou modificar a estrutura física do solo. Organismos maiores como minhocas e formigas influenciam as propriedades físicas do solo, já os micro-organismos atingem principalmente as reações químicas do solo (CAMARGO, 2016).

O indicador de qualidade biológico mede e reflete facilmente o status ambiental. A biomassa microbiana, mineralização de nutrientes (N, P e S), respiração do solo, fixação biológica de nitrogênio e atividade enzimática do são os principais indicadores biológicos aplicados, uma vez que estão relacionados a fatores que definem a qualidade edáfica, como, reposição de nutrientes, potencial produtivo, atividade microbiana, suprimento de nitrogênio para as plantas e atividade catalítica do solo (SANTOS; MAIA, 2013).

Os sistemas de manejo implantados durante a produção agrícola têm efeito direto ou indireto sobre a distribuição da biota do solo (ARSHAD et al., 1990). A adição de compostos orgânicos, como a cinza vegetal, mantidos sob o solo podem alterar suas características químicas e a atividade da biomassa microbiana do solo (FRANZLUEBBERS et al., 1994).

A maior diversidade biológica é um objeto de estudo em avaliação de qualidade do ambiente, do solo e dos sistemas de manejo, pois estabelecem um equilíbrio do solo por um período de tempo maior (LAVELLE et al., 2006). É

possível observar que em áreas de florestas de florestas a biomassa microbiana apresenta maior densidade do que em sistemas manejados (RUIZ; LAVELLE; GIMENEZ, 2008).

A microbiota do solo é influenciada, direta ou indiretamente, pelos diversos atributos presentes no solo, tanto químicos como físicos. Isso está relacionado ao comportamento do solo como um sistema aberto, em constante troca de energia e matéria com o meio ao seu redor (PRIMIERI, 2017).

Os diferentes usos aplicados a terra afetam diretamente a quantidade, a qualidade e as vias de entrada e saída de carbono do sistema. A erosão causada por erros no manejo, por exemplo, pode diminuir o estoque de carbono presente nos solos agrícolas e como consequência a atividade microbiana, quando comparados a um solo e floresta (DON et al., 2011).

2.6 Atividade microbiana no solo

Os micro-organismos desempenham funções essenciais no ecossistema, como na decomposição da matéria orgânica e na dinâmica de nutrientes do solo. Deste modo, estão ligados a processos, reações e atividades que possibilitam a caracterização, avaliação e monitoramento da qualidade de um determinado ecossistema através de características quantitativas e qualitativas (MARTINS et al., 2010).

A atividade microbiana varia de acordo com a quantidade e o tipo de micro-organismos presentes no solo. Fatores como a liberação de CO_2 e a mineralização de nitrogênio orgânico quantificam a intensidade da atividade microbiana no solo. De maneira geral, existem outras fontes que influenciam a atividade microbiana do solo, como a quantidade e tipo de matéria orgânica incorporada ao solo e o tipo de preparo do solo (ALEXANDER, 1977).

Mudanças no uso do solo e suas diferentes formas de manejo afetam as comunidades microbianas do solo, inúmeros processos realizados no dia a dia das lavouras influenciam as respostas geradas pelos micro-organismos e sua atividade. Exemplo disto, temos a incorporação de gramíneas ou leguminosas, que apresentam uma relação C/N distinta, influenciando diretamente a biomassa

microbiana e a disponibilidade de inúmeros nutrientes ao solo (MACHADO et al., 2012).

Mudanças repentinas no pH, umidade, aeração, temperatura e disponibilidade de nutrientes do solo estão diretamente associados ao comportamento das comunidades microbianas, podendo alterar sua atividade e população (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

De acordo com Baretta (2007), os organismos presentes no solo por apresentarem uma estreita relação com os componentes físicos e químicos podem ser classificados como bioindicadores de qualidade, uma vez que, seu funcionamento está intimamente ligado às propriedades que descrevem o solo.

A atividade enzimática, por exemplo, revela informações sobre o potencial bioquímico e de manutenção do solo, bem como indica a qualidade do solo por prover respostas rápidas e mudanças nas funções desempenhadas por elas, deste modo apresentam uma relação estreita com atividade e biomassa microbiana (TAYLOR et al., 2002).

As enzimas podem estar ou não associadas às células microbianas, as principais enzimas presentes no solo e suas respectivas funções são: urease (ciclo do nitrogênio), celulase (ciclo do carbono), fosfatase (ciclo do fósforo), arilsulfatase (ciclo do enxofre) e β-glicosidase, com o ciclo do carbono e micronutrientes (ARAUJO; MONTEIRO, 2007).

Toda enzima desempenha um papel fundamental relacionado aos ciclos dos nutrientes, principalmente vinculado à sua disponibilidade no solo. As fosfatases por exemplo, catalisam reações principalmente em situações de deficiência de fósforo, ou seja, tem incremento da sua atividade em baixos teores de P inorgânico, gerando uma elevação na mineralização em solos pobres em fósforo (SKUJINS, 1967; BALOTA et al., 2013). A arilsulfatase tem sua atividade em função das limitações de enxofre presente no solo, geralmente sua presença reflete os níveis de imobilização do enxofre (KLOSE; TABATABAI, 1999).

A β-glicosidase está diretamente ligada a degradação da matéria orgânica do solo. A glicose apresenta-se como seu produto final durante as reações químicas e é fonte principal de carbono para os micro-organismos do solo (TABATABAI, 1994). Deste modo, é fácil relacionar as enzimas e sua importância na formação de complexos oriundos da matéria orgânica, podendo

indicar mudanças geradas pelo manejo num curto período de tempo (DICK; BURNS, 2011; BALOTA et al., 2013).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e caracterização do experimento

O experimento foi conduzido no Instituto Mato-grossense do Algodão (IMA), município de Rondonópolis-MT, localizado nas seguintes coordenadas: 16°33'17.0"S e 54°38'17.5"W. O tipo climático segundo a classificação Köppen é Aw, sendo o clima tropical, com maior concentração de chuvas no verão, possuindo como características o ar quente e úmido, com duas estações bem definidas (Figura 1).

Figura 1. Localização da área experimental (Google Earth, 2017).

O solo da área é classificado como sendo um Neossolo Quartzarênico (EMBRAPA, 2013). O solo foi caracterizado através de análise granulométrica com textura franca arenosa, apresentando em sua composição as proporções

de areia, silte e argila de 773, 178 e 49 g kg^{-1} respectivamente, na camada de 0-20 cm (Tabela 1).

Tabela 1. Composição química e granulométrica de Neossolo Quartzarênico coletado da área experimental.

pH	P	K	Ca	Mg	Al	H	CTC	SB	M.O	V	Areia	Silte	Argila
$CaCl_2$	Mg dm^{-3}				$cmol_c$ dm^{-3}				g dm^{-3}	%		g kg^{-1}	
4,1	1,1	12	0,2	0,2	0,8	3,0	4,2	0,4	12,3	10,4	773	49	178

P- Fósforo; K- Potássio; Ca- Cálcio; Mg- Magnésio; Al- Alumínio; H- Hidrogênio; CTC- Capacidade de troca catiônica; SB- Soma de bases; M.O- Matéria orgânica.

O projeto em andamento na área visava demonstrar os benefícios do uso de cinza vegetal para recuperação de uma área cultivada com pastagem em processo de degradação, onde se realizou análises das características produtivas e nutricionais das plantas e dos atributos químicos e físicos do solo.

A cinza vegetal utilizada foi proveniente de combustão de material vegetal em caldeiras ($^{+}$- 1000 °C), oriunda de uma indústria alimentícia do município de Rondonópolis-MT. Esse material apresentava um poder relativo de neutralização total (PRNT) de 32,66%, Reatividade (RE) igual a 149,8% e Poder de neutralização (PN) de 21,8%, características que influenciam a eficiência da cinza vegetal em alterar o pH do solo, outros dados sobre a composição da cinza vegetal utilizada encontram-se na tabela 2.

Tabela 2. Composição química da cinza vegetal analisada como corretivo e fertilizante para recuperação da área experimental.

pH	N	P_2O_5	K_2O	Ca	Mg	Na	SO_4	Zn	Cu	Fe	Mn	B	Si
$CaCl_2$	.....g kg^{-1}.....												
10,7	3,1	9,6	34,7	33,0	21,0	0,1224	2,0	0,1	0,0	10,3	0,4	0,1	274,4

N-Nitrogênio; P_2O_5- Fósforo em citrato de amônio e água; K_2O- Potássio; Ca- Cálcio; Mg- Magnésio; Na- Sódio; SO_4- Enxofre; Zn- Zinco; Cu- Cobre; Fe- Ferro; Mn- Manganês; B- Boro e Si- Silício.

O experimento foi implantado no ano agrícola 2014/15, em área experimental, na qual vinha sendo cultivada com pastagem degradada de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu por 11 anos, com solo descoberto e presença de plantas invasoras.

Inicialmente, foi realizado um rebaixamento do pasto para redução da fitomassa, seguido do estaqueamento e identificação de cada unidade experimental. Posteriormente, ocorreu a aplicação das doses de cinza vegetal em cada parcela. Para inserir o fator manejo aos tratamentos houve a incorporação da cinza com auxílio do trator e da grade niveladora nas respectivas parcelas.

3.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com arranjo experimental em faixas, em um esquema fatorial 6 x 2, correspondente a seis doses de cinza vegetal (0; 3; 6; 9; 12 e 15 t ha^{-1}) e dois manejos de aplicação de cinza vegetal (incorporado e não incorporado).

O experimento foi constituído por 12 tratamentos, com de 4 repetições totalizando 24 parcelas de 240 m^2 e 48 subparcelas (unidades experimentais) de 120 m^2, correspondendo a uma área de 5760 m^2 (Figura 2). Como referência, foram realizadas coletas em área de cerrado nativo.

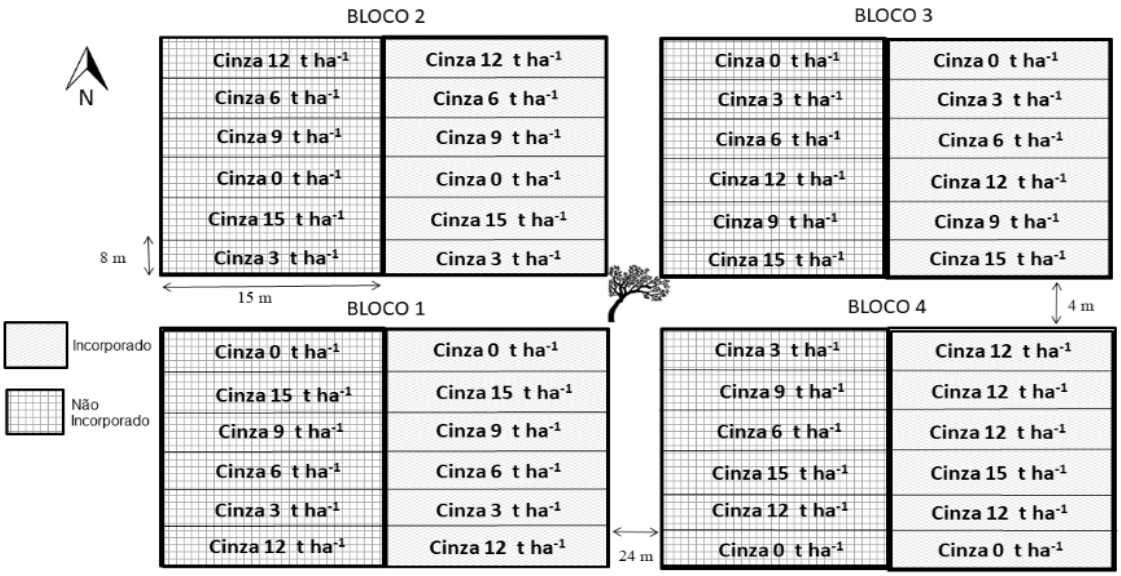

Figura 2. Croqui da área experimental.

3.3 Coleta e preparo das amostras

As amostras de solo foram coletadas nos meses março e agosto de 2018, correspondendo ao período chuvoso e seco, respectivamente.

O solo foi coletado na profundidade de 0 a 10 cm, com auxílio de trado holandês (Figura 3), no qual períodos de chuva e de seca para compor uma amostra composta foram retiradas 5 amostras simples em cada subparcela, totalizando 48 amostras. A referência foi obtida em mata nativa localizada próximo ao experimento.

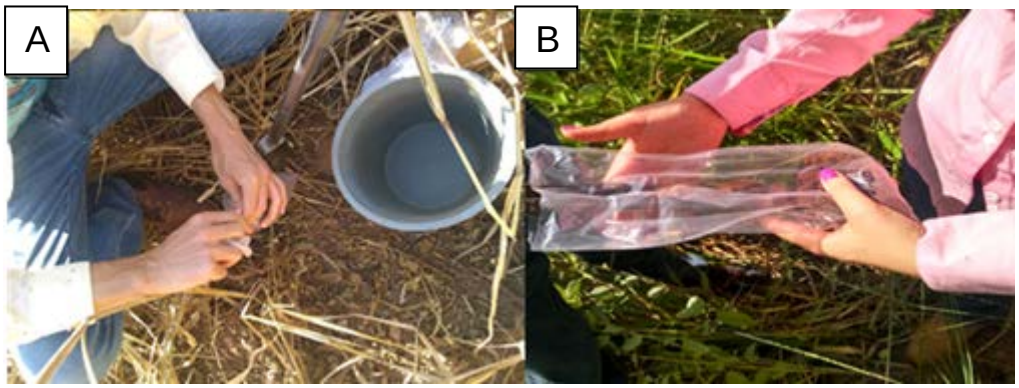

Figura 3. (A) Amostra composta e (B) Acondicionamento em saco plástico.

Após a coleta, com intuito de manter a viabilidade e integridade das amostras, as mesmas foram acondicionadas em sacos plásticos (polietileno) permeáveis aos gases O_2 e CO_2, mas que não permitiram uma possível desidratação (WOLLUM II, 1994), e posteriormente foram levadas para o laboratório em caixa térmica com gelo, e mantidas no refrigerador a 4 °C até o início das análises.

As amostras foram submetidas a análise de umidade e pH do solo. A umidade encontrada nas amostras estava em média 10% e 1% nos períodos chuvoso e seco, respectivamente. Já o pH do solo, está representado nas figuras 4 e 5, separado por períodos chuvoso e seco.

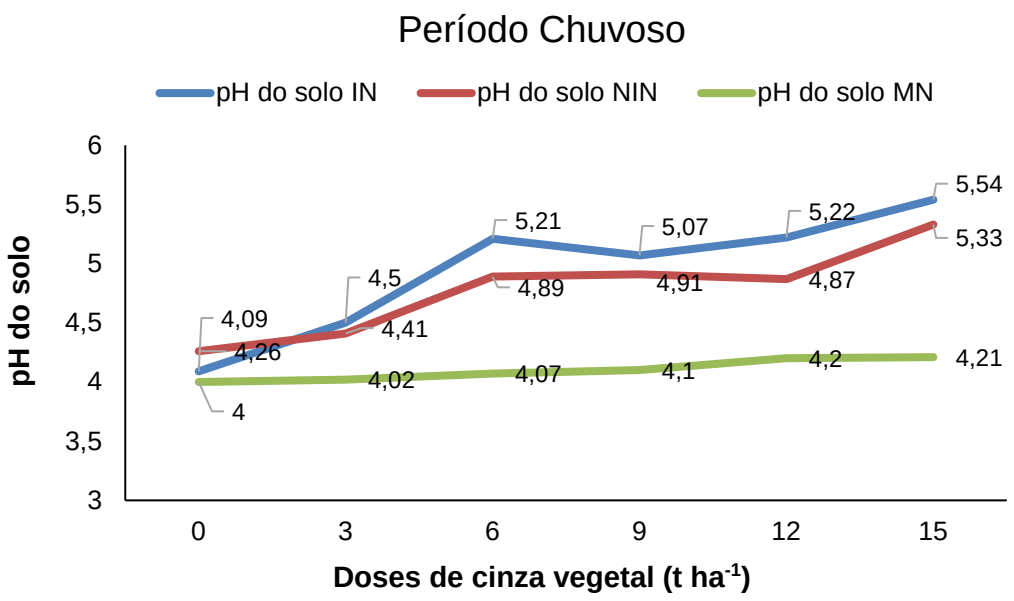

Figura 4. pH do solo em solução de $cacl_2$, em função das doses de cinza. IN- cinza incorpora, NIN- cinza não incorporada e MN- mata nativa.

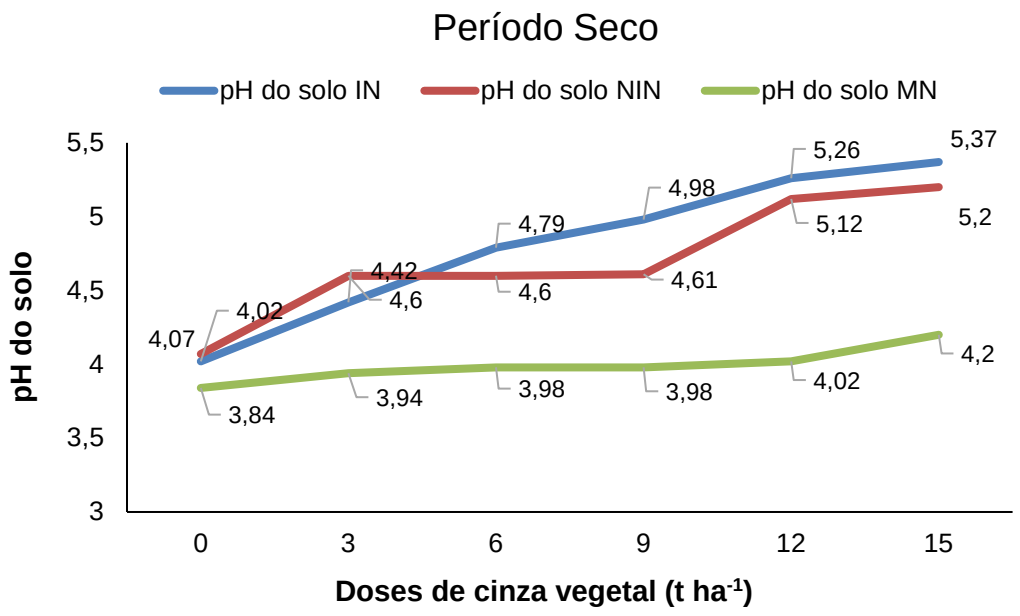

Figura 5. pH do solo em solução de $cacl_2$, em função das doses de cinza. IN- cinza incorpora, NIN- cinza não incorporada e MN- mata nativa.

3.4 Variáveis analisadas

As variáveis foram analisadas no Laboratório de Meio Ambiente, da Universidade Federal de Mato Grosso, Câmpus de Rondonópolis. Foram analisados tanto atributos microbiológicos quanto bioquímicos do solo, sendo eles: carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM), respiração basal (RB), atividade das enzimas fosfatase ácida, β - glicosidase e arilsulfatase, bactérias e fungos totais e bactérias diazotróficas.

3.4.1 Carbono e Nitrogênio da biomassa microbiana

Para determinação do carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana foi utilizada a metodologia proposta por Keeney e Nelson (1982). Essa metodologia baseia-se nos processos iniciais de fumigação e extração das amostras de solo e posteriormente análise de colorimetria com auxílio de um espectrofotômetro.

Inicialmente, foram pesados 5g de solo de cada amostra e colocados em tubos Falcon de 50 mL, e identificados de acordo com os tratamentos

correspondentes. Adicionou ao solo 0,25 mL de clorofórmio isento de álcool e então as amostras foram lacradas e deixadas sob incubação por 24h em local sem luz e com temperatura controlada de 25 a 28 °C.

Após as 24h de incubação, os tubos foram levados para capela de exaustão, onde foram deixados por 1h destampados para que o clorofórmio fosse completamente evaporado e finalizasse o processo de fumigação. Posteriormente, deu-se início a extração, onde foram adicionados 20 mL de solução de sulfato de potássio (0,5 M de K_2SO_4) em cada tubo, levados em seguida para o agitador orbital a 220 rpm por 30 minutos, centrifugados por 5 minutos a 2500 rpm, e por fim, a solução foi filtrada para obtenção do extrato (Figura 6).

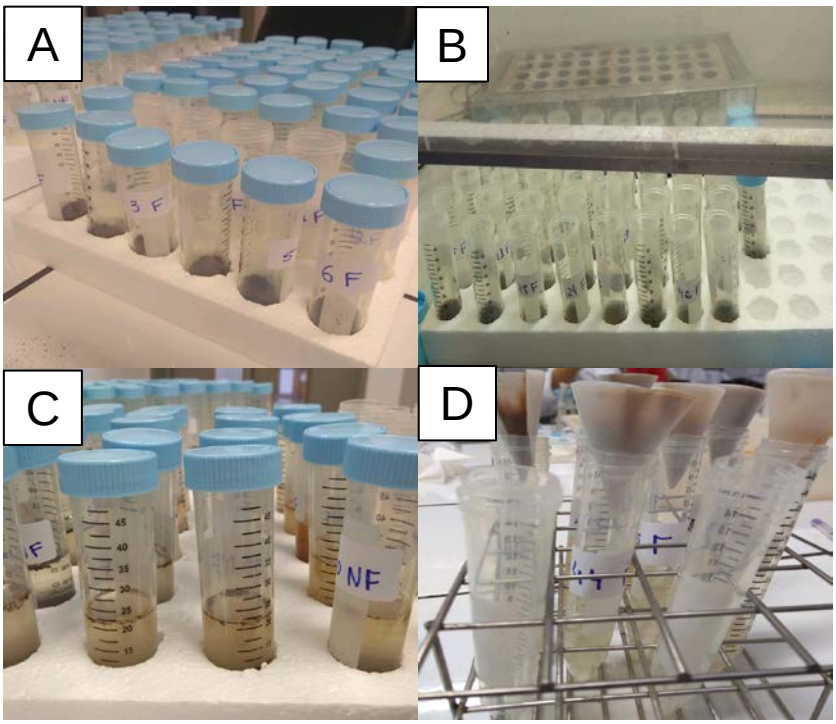

Figura 6. (A) Amostras de solo após pesagem, (B) Amostras em capela para evaporação do clorofórmio, (C) Amostras com solução de sulfato de potássio e (D) Filtragem do extrato.

O extrato resultante deste processo pôde ser usado tanto para análise de carbono da biomassa microbiana, quanto para análise de nitrogênio da biomassa microbiana, diferindo somente a análise colorimétrica.

Assim que o extrato foi filtrado, iniciou-se a análise colorimétrica de nitrogênio, e para tal, foi transferido 1 mL do extrato para tubos de ensaio, adicionando 5 mL de solução de colorimetria e após homogeneizado, foram deixados em descanso por 15 minutos. Passado esse tempo, adicionou-se 5 mL de solução alcalina de hipoclorito. Os tubos então foram levados para agitar por 1h no agitador orbital a 100 rpm e realizado a leitura da solução em espectrofotômetro a 660 nm de absorbância (Figura 7).

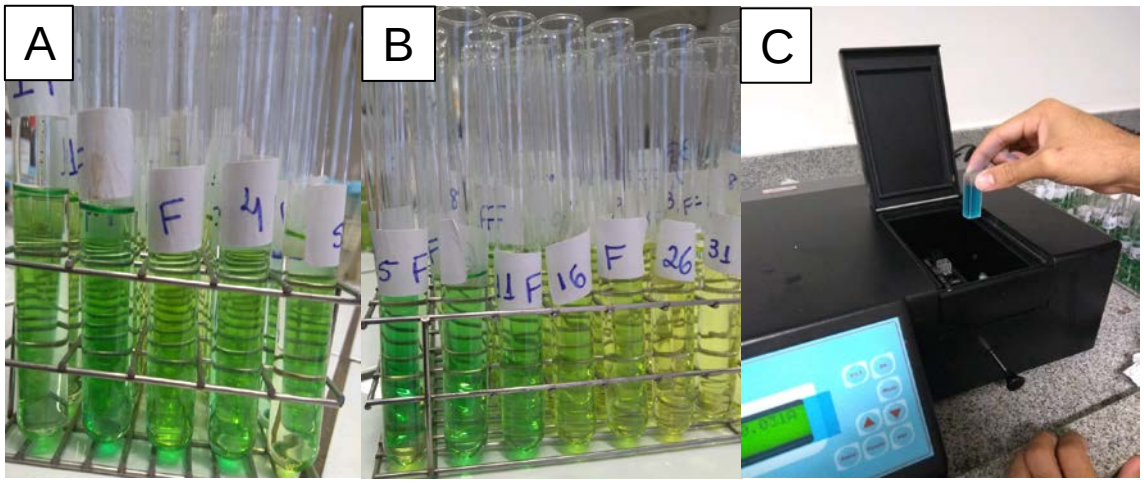

Figura 7. (A e B) Amostras prontas para leitura e (C) Leitura sendo realiza em espectrofotômetro.

Para obter a concentração de NH_4^+-N L^{-1} presente nas amostras foi necessário criar uma curva de calibração, feita através da diluição de uma solução estoque de sulfato de amônio. A partir da solução estoque pipetou-se 0- 0,5- 1- 1,5- 2- 2,5 mL da solução estoque em balão volumétrico de 100 mL para se obter padrões de 0- 5- 10- 15- 20 e 25 mg de NH_4^+-N L^{-1}. Essas diluições passaram pelos mesmos processos do extrato retirado do solo, recebendo as mesmas soluções e processos de colorimetria (Figura 8), só então a curva foi feita com auxílio do software Excel a partir das leituras de absorbância versus concentração padrão (Figura 9).

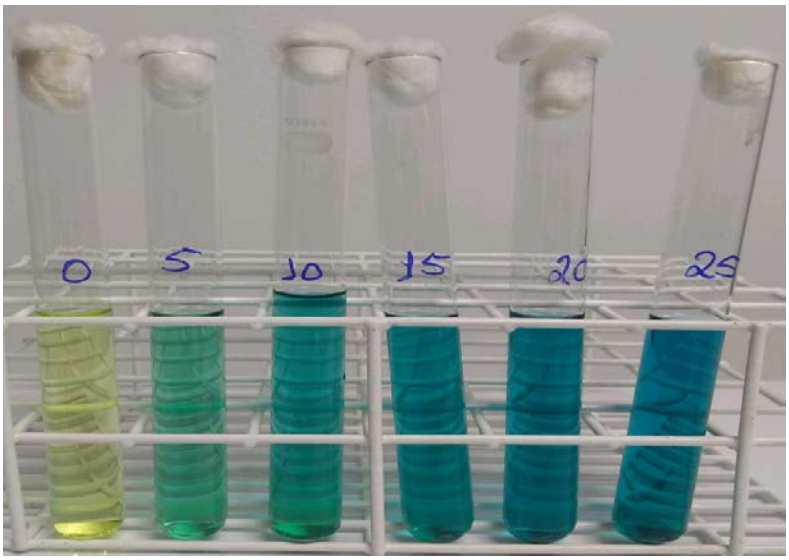

Figura 8. Amostras com concentrações conhecidas de NH_4 0-25mg.

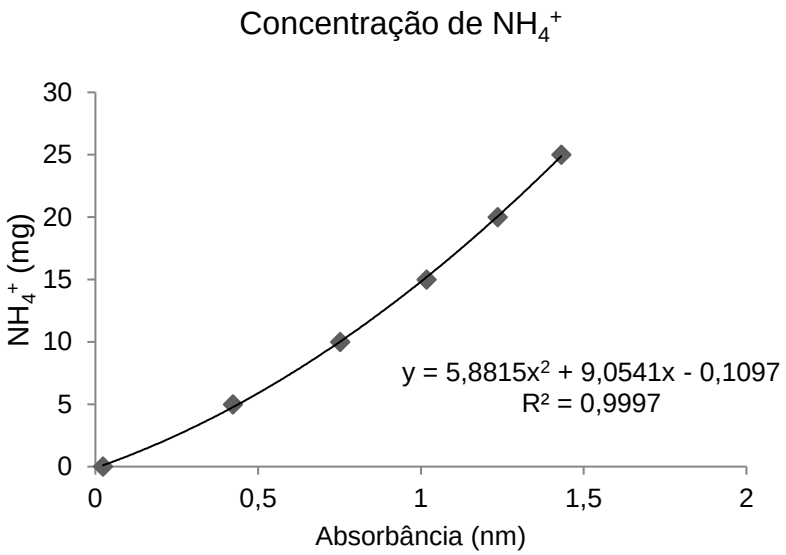

Figura 9. Absorbância versus concentração de NH_4^+ L^{-1}.

Fez-se necessário calcular a correção da concentração das amostras pela diferença entre a amostra e o branco, por meio da seguinte equação:

$$\text{N\% Nitrogênio} = \frac{\text{C. 0,01}}{\text{peso da amostra}}$$

C: concentração de nitrogênio nas amostras.

Assim como o nitrogênio da biomassa microbiana, a análise de colorimetria do carbono da biomassa microbiana (CBM) teve início após a extração das amostras.

Para isso, adicionou-se 1 mL de extrato filtrado, 1 mL de Pirofosfato de Manganês e 1 mL de ácido sulfúrico concentrado em tubos de ensaio, em seguida para homogeneização da solução os tubos passaram pelo vórtex e logo depois foram deixados em repouso por 16h.

No branco, ao invés do extrato filtrado, foi utilizado solução extratora de sulfato de potássio 0,25M. Após as 16h de repouso, realizou-se a leitura das amostras em espectrofotômetro a 495 nm de absorbância.

Para descobrir as concentrações correspondentes a cada leitura em nanômetros, foi elaborado uma curva de calibração semelhante à leitura feita para o nitrogênio. No caso do carbono, foi preparado uma solução estoque de ácido oxálico, diluída em concentrações de 0, 5, 10, 20, 50, 100, 120, 150 e 200 mg de carbono. A partir da equação gerada pela curva foi possível obter a concentração das demais amostras (Figura 10 e 11).

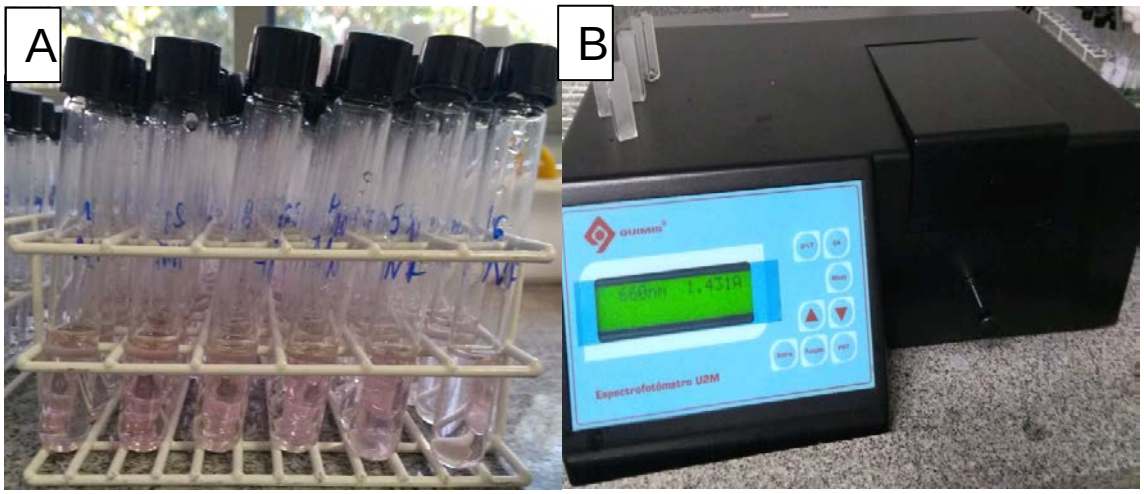

Figura 10. (A) Solução antes da leitura, (B) Espectrofotômetro utilizado para ler a absorbância das amostras.

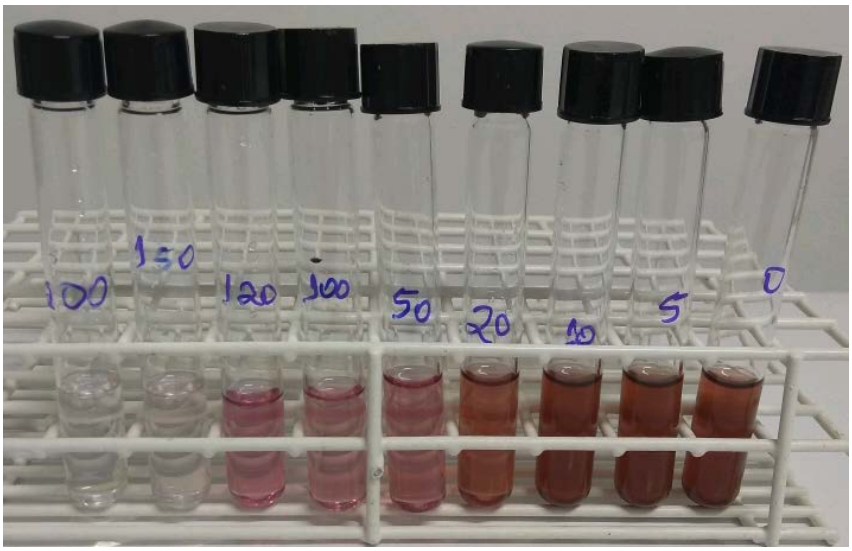

Figura 11. Amostras com concentrações conhecidas de Carbono 0-200mg.

As diluições observadas na figura 8 utilizadas para elaboração da curva assim como as amostras do nitrogênio, passaram pelos mesmos processos do extrato retirado do solo, recebendo as mesmas soluções e processos de colorimetria, só então a curva foi feita com auxílio do software Excel a partir das leituras de absorbância versus concentração padrão.

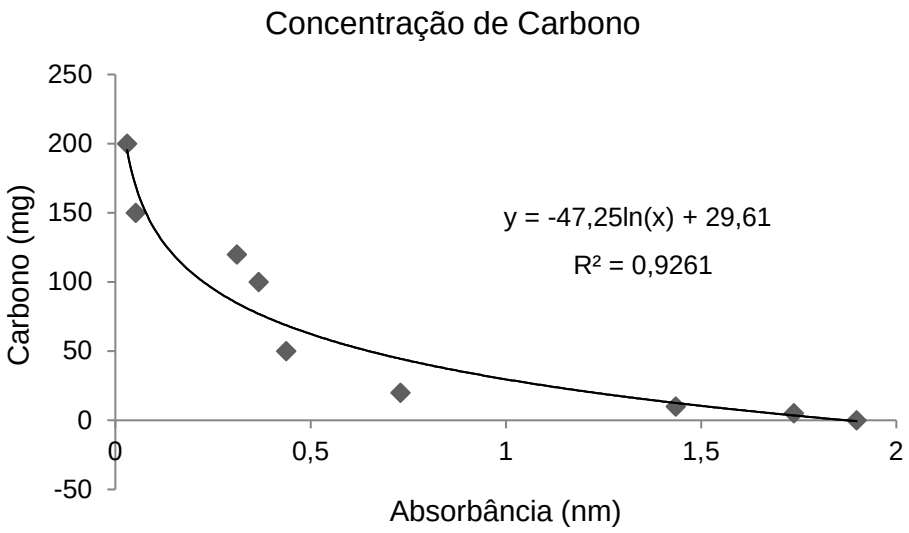

Figura 12. Absorbância versus a concentração de carbono.

Após obtenção da equação, os valores de absorbância passaram por cálculos até resultarem em µg g^{-1} de solo.

$$\mathrm{C(mgCL^{-1}\ do\ extrato) = CL * fd}$$

CL= concentração de C (mg L^{-1}) na solução de leitura;

fd = fator de diluição (3,0).

$$\mathrm{CS(mgCg^{-1}) = (\frac{C * Vt}{1000})/MS}$$

Vt = volume total do extrato (mL);

Ms = massa de solo seco.

$$\mathrm{Vt = Ve + Vs}$$

V_E = volume do extrato;

V_S = volume de água na amostra de solo (mL).

$$\mathrm{CBM(\mu g\ g^{-1}) = CE/Kec}$$

CE = (Carbono orgânico extraído da amostra fumigada) – (Carbono orgânico extraído da amostra não-fumigada);

K_{EC} = 0,38 (fator de recuperação do carbono das amostras de solo).

3.4.2 Respiração basal

A análise da respiração basal seguiu a metodologia descrita por Silva et al. (2007), e foi dividida em três etapas: procedimento analítico, incubação e quantificação do CO_2 respirado. O procedimento analítico baseou-se em pesar 50g de solo e acondicioná-lo em frascos de vidro hermeticamente fechados. Antes da incubação, foram pipetados 20 mL de hidróxido de sódio 0,5M e colocados em vidros de penicilina. O solo e o hidróxido de sódio foram colocados em um mesmo frasco de vidro, porém não estavam em contato direto (Figura 13).

Os frascos foram fechados e vedados com papel plástico, logo depois as amostras foram levadas para incubação em local isento de luminosidade e com temperatura oscilando de 25 a 28 °C, variando de 5 a 10 dias. Para o branco foi feito uma amostra apenas com hidróxido de sódio, sem adição de solo.

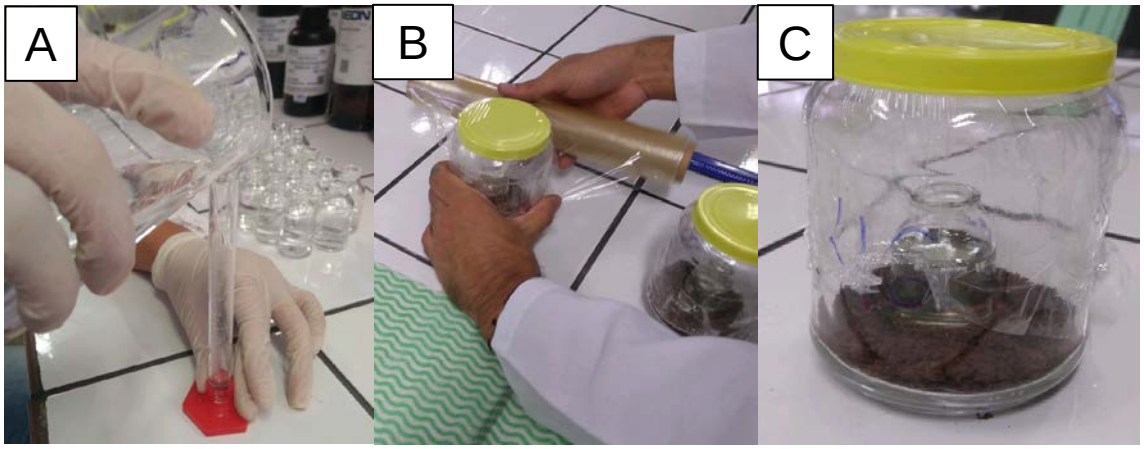

Figura 13. (A) solução de hidróxido de sódio sendo distribuída, (B) vedação dos vidros com papel plástico e (C) amostra pronta para ser incubada.

A quantificação do CO_2 respirado foi feita logo após o período de incubação, através de titulação. Foram adicionados 3 mL de cloreto de bário e os frascos foram imediatamente fechados. As amostras foram destampadas apenas no momento da titulação, onde foram adicionadas 3 gotas de fenolftaleína 1% e titulado sob agitação com solução de ácido clorídrico 0,3M. Ao final da titulação, a coloração de solução mudou de rosa a incolor.

Os valores obtidos em mL de ácido utilizados na titulação foram convertidos em miligramas de C-CO2 kg^{-1}solo h^{-1}, por meio da seguinte equação:

$$\mathrm{RBS}(\mathrm{C-CO2\ kg^{-1}solo\ h^{-1}}) = (\frac{(\mathrm{Vb-Va}) * \mathrm{M} * 6 * 1000}{\mathrm{Ps}})/\mathrm{T}$$

Vb= volume (mL) de ácido gasto na titulação do branco;

Va= volume (mL) de ácido gasto na titulação da amostra;

M= molaridade do ácido;

Ps= massa do solo seco (g);

T= tempo de incubação (h).

3.4.3 Atividade enzimática

A atividade enzimática do solo foi realizada por meio da quantificação das enzimas fosfatase ácida, β - glicosidase e arilsulfatase, empregando o método proposto por Tabatabai e Bremner (1969).

Inicialmente para quantificar a presença da fosfatase ácida pesou-se 0,5g de solo em triplicatas e acondicionou-os em tubos de vidros com rosca. Depois foram adicionados 0,120 mL de tolueno, 2mL de MUB (pH 6,5) e 0,5 mL de solução de p - nitrofenil (pH 6,5). Em seguida, os tubos foram agitados em vórtex e deixados em banho-maria à 37°C por 1h. Após 1h, adicionou-se 0,5 mL de cloreto de cálcio e 2 mL de hidróxido de sódio 0,5M. Os tubos foram levados ao agitador orbital por 1h e logo em seguida repetiu-se o processo de homogeneização em vórtex. A solução só então foi filtrada em papel qualitativo duas vezes e lida a absorbância em espectrofotômetro à 400 nm.

A enzima β-glicosidase seguiu uma metodologia semelhante à enzima fosfatase ácida descrita anteriormente, sendo quantificada pesando 0,5g de solo em triplicata e alocando-o em tubos de ensaio próprios para atividade enzimática. Foram adicionados 0,120 mL de tolueno, 2 mL de MUB (pH 6) e 0,5 mL de p-nitrofenil- β-glicosídeo (pH 6). Os tubos então foram agitados em vórtex e deixados em banho-maria por 1h à 37°C. Logo após o banho-maria, adicionou-se 2 mL de Tris pH 12 (MUB estoque em pH 12), 0,5 mL de cloreto de cálcio e 1 mL de água destilada. Os tubos passaram novamente pelo vórtex, foram filtrados

duas vezes em papel qualitativo e efetuado a leitura em espectrofotômetro a 400 nm de absorbância.

A enzima arilsulfatase pôde ser quantificada pesando 1g de solo em erlenmeyer de 50 mL, no qual foram adicionados 0,25 mL de tolueno, 4 mL de acetato buffer e 1 mL de sulfato de p-nitrofenil de potássio, só então os tubos passaram pelo vórtex e foram incubados em banho-maria por 1h à 37°C. Finalizado o período de incubação, foram adicionados às amostras 1 mL de cloreto de cálcio (0,5 M), 4 mL de hidróxido de sódio (0,5 M) e 1 mL de água destilada e, por fim, as amostras foram agitadas em vórtex, filtradas e lidas em espectrofotômetro a 400 nm de absorbância (Figura 14).

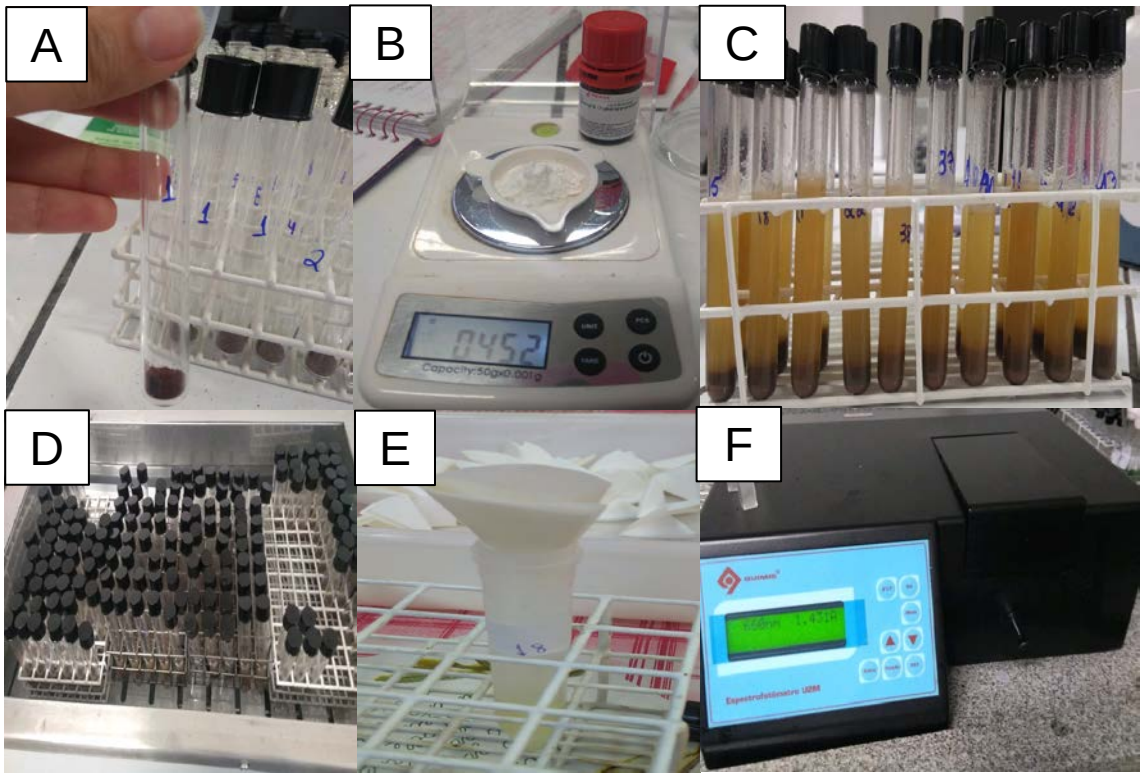

Figura 14. (A) 0,5g de solo em tubos de ensaio com rosca, (B) pesagem do substrato enzimático, (C) amostras de atividade enzimática, (D) amostras em banho-maria, (E) filtragem do sobrenadante e (F) espectrofotômetro.

Como as demais variáveis que utilizaram espectrofotômetro, que se baseia na capacidade que a amostra tem em absorver a luz, para as análises enzimáticas também foi criada uma curva de calibração que permitiu aferir a concentração de p-nitrofenol das amostras em estudo. Para obter a curva foi feito

uma solução estoque de p-nitrofenol, na qual a solução foi diluída em água destilada e resultou em 6 pontos na curva de calibração, com as concentrações 0, 5, 10, 20, 30 e 40 µg p-nitrofenol (Figuras 15 e 16).

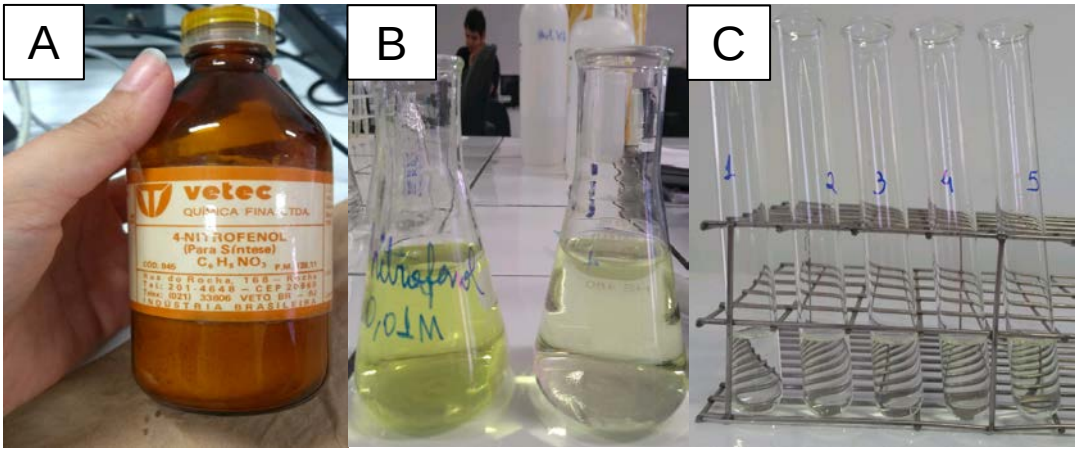

Figura 15. (A) reagente p-nitrofenol, (B) solução estoque e (C) amostras com concentrações de p-nitrofenol pré-estabelecidas.

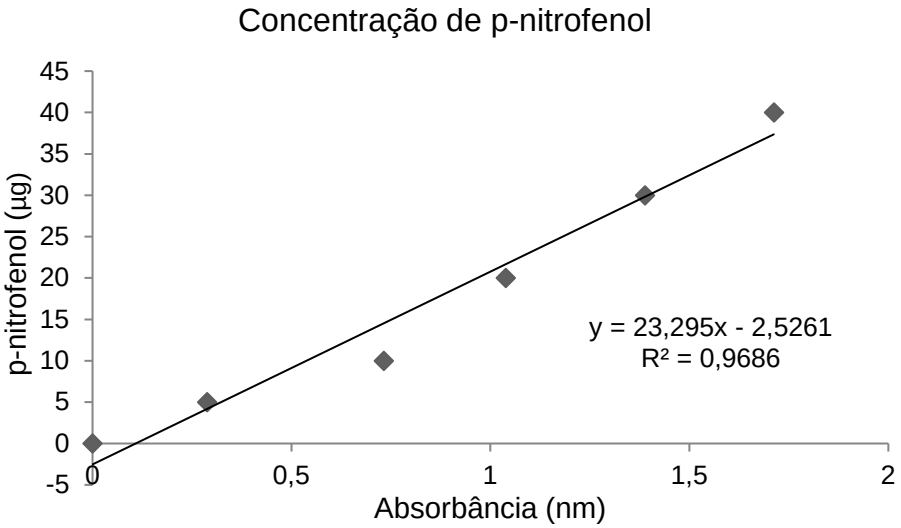

Figura 16. Absorbância versus concentração de p-nitrofenol.

Para finalizar a análise, os dados foram submetidos à seguinte equação:

$$\mu g\ p-\text{nitrofenol g de solo seco}^{-1}\ h^{-1} = \frac{\text{Equação da curva} * 6{,}62}{\text{g de solo seco}}$$

3.4.4 Bactérias diazotróficas

Buscando identificar e quantificar a presença de bactérias diazotróficas nas amostras de solo, foram utilizados três meios de cultura: NFb (semiseletivo para *Azospirillum* sp.), JNFb (semiseletivo para *Herbaspirillum* sp.) e JMV (semiseletivo para *Burkholderia* sp.).

Primeiramente foi preparada a solução salina para o processo de diluição seriada. Em seguida, a solução foi distribuída em erlenmeyer e tubos de ensaio, 90 mL e 9 mL respectivamente, e esterilizada em autoclave à 121°C por 15 minutos. Nos erlenmeyer foram adicionados à solução salina 10g de solo e levados para agitar em mesa agitadora por 1h a 100 rpm. Após a agitação o inóculo original foi diluído em tubos de ensaio, como demonstrado na figura 17. As diluições utilizadas foram de 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} e 10^{-6}.

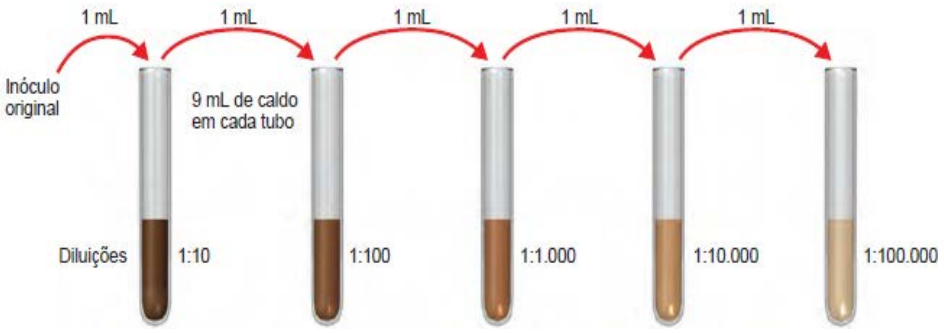

Figura 17. Diluição seriada, ilustração obtida de Tortora et al. (2012).

O meio de cultura NFb foi preparado adicionando 5g de ácido málico, 0,5g de K_2HPO_4, 0,2g de $MgSO_4.7H_2O$, 0,1g de NaCl, 0,02g de $CaCl.2H_2O$, 2 mL de solução de micronutrientes, 2 mL de azul de bromotimol, 4 mL de FeEDTA, 1 mL de solução de vitaminas e 4,5g de KOH por 1000 mL de solução (DÖBEREINER et al., 1995). O meio teve seu pH ajustado para 6,5 a 6,8, depois adicionou-se 1,8g de Agar.

Para o meio JNFb foi empregado o seguinte procedimento. Adicionou-se 5g de ácido málico, 0,6g de K_2HPO_4, 1,8g de KH_2PO_4, 0,2g de $MgSO_4.7H_2O$, 0,1g de NaCl, 0,02g de $CaCl.2H_2O$, 2 mL de solução de micronutriente, 2 mL de

azul de bromotimol, 4 mL de FeEDTA, 1 mL de solução de vitaminas e 4,5g de KOH por litro de meio preparado (DÖBEREINER et al., 1995). Este meio teve o pH ajustado para 5,8 e logo em seguida foram adicionados 1,8g de Agar.

O terceiro meio preparado para quantificar as bactérias diazotróficas presentes nas amostras foi o JMV. Para o preparo de 1000 mL de meio de cultura foram utilizados 5g de manitol, 0,6g de K_2HPO_4, 1,8g de KH_2PO_4, 0,2g de $MgSO_4.7H_2O$, 0,1g de NaCl, 0,2g de $CaCl.2H_2O$, 2 mL de solução de micronutriente, 2 mL de azul de bromotimol, 4 mL de FeEDTA, 1mL de solução de vitaminas (BALDANI et al., 2000). O pH do meio foi ajustado para 4,2 a 4,5 como descrito na metodologia e por fim adicionou-se 1,8g de Agar.

Antes da esterilização os meios foram aquecidos para que o Agar se dissolvesse, em seguida distribuiu-se 5 mL de meio em cada vidro de penicilina. Eles foram tampados e levados para a autoclave.

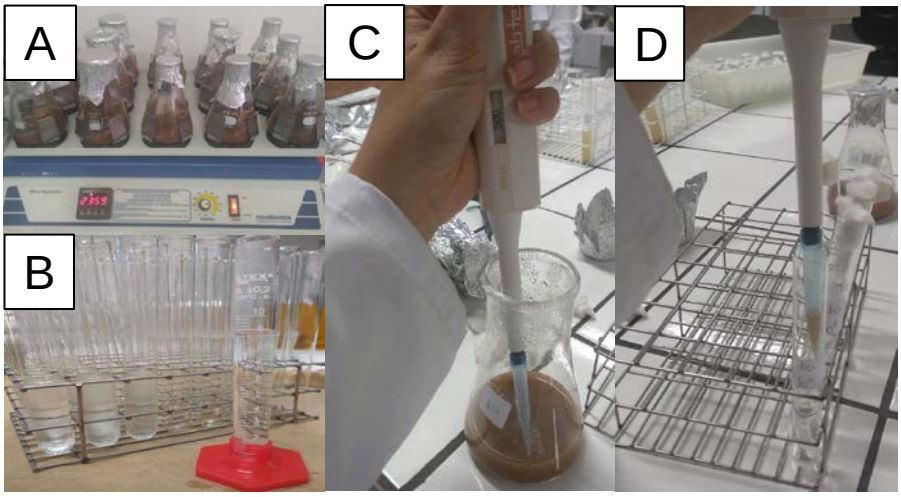

Figura 18. (A) Diluição 1:10 sob agitação; (B) distribuição de 9 ml de solução salina em tubos de ensaio; (C) início da diluição e (D) diluição em tubos de ensaio.

Logo após a esterilização, foi realizada a inoculação de uma alíquota de 0,1 mL oriunda da diluição em cada vidro contendo meio de cultura. As diluições foram inoculadas em triplicata. As amostras ficaram incubadas de 5 a 10 dias e o crescimento foi avaliado como positivo (+) para as amostras que resultaram em crescimento bacteriano e negativo (-) para as amostras que não tiveram crescimento.

O número mais provável foi baseado na presença ou ausência de película formada no meio semissólido. Os resultados foram então convertidos para UFC mL^{-1} utilizando a tabela de McCrady para cálculo do Número Mais Provável (NMP).

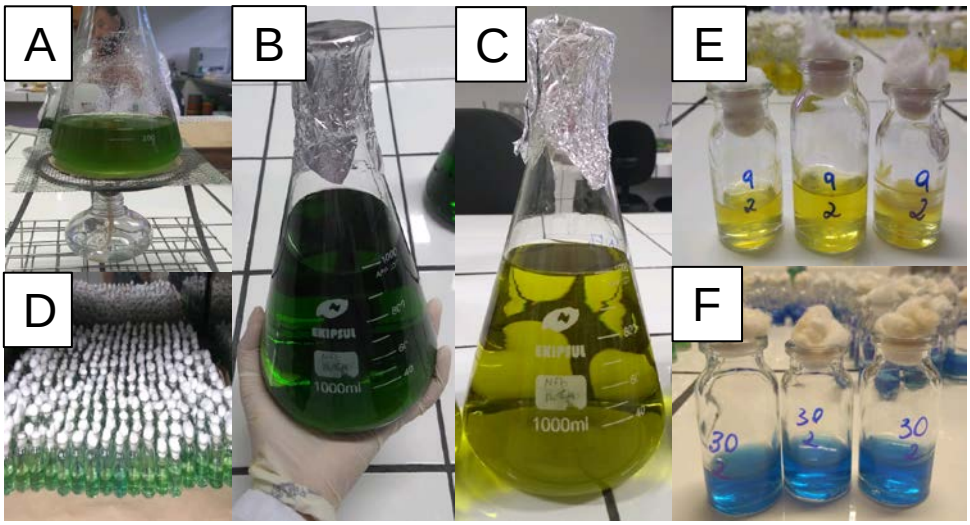

Figura 19. (A) Agar sendo dissolvido em meio de cultura, (B e C) meios de cultura prontos, (D) meios distribuídos em vidros de penicilina, (E) amostras inoculadas em triplicata e (F) amostras após crescimento microbiano.

3.4.5 Bactérias e Fungos totais

Para estimar a população de bactérias e fungos totais presentes nas amostras, foram feitas diluições seriadas utilizando a mesma metodologia descrita para bactérias diazotróficas. A diferença desta variável é que a inoculação é feita em placas com meio sólido, ao invés de vidros de penicilina com meios semissólido.

Para fungos foram utilizadas as diluições 10^{-2}, 10^{-3} e 10^{-4}. Já para bactérias totais foram utilizadas as diluições 10^{-4}, 10^{-5} e 10^{-6} (MARTINS, 2002).

No preparo do meio de cultura para crescimento microbiano foi utilizado Agar nutriente na dose de 23 g L^{-1}. Foram pesados o Agar e dissolveu-o em água destilada, em seguida o meio foi esterilizado em autoclave por 15 minutos a

121°C. Alíquotas de 0,1 mL foram espalhadas com auxilio de uma alça de Drigalski na superfície da placa contendo o meio de cultura esterilizado.

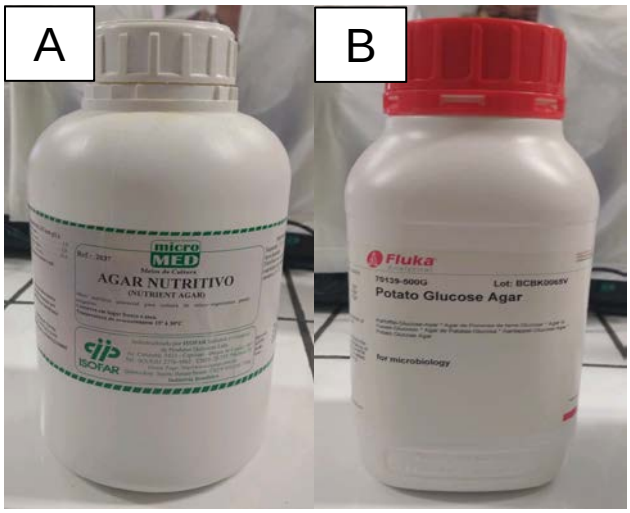

Figura 20. (A) Agar Nutriente utilizado para crescimento bacteriano, (B) Agar de glucose de batata utilizado para crescimento de fungos.

Já o preparo do meio de cultura para crescimento de fungos foi utilizado Agar de glucose de batata na dose de 39 g L^{-1}. O Agar foi pesado e dissolvido em água destilada, em seguida o meio foi esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121°C.

O meio recebeu estreptomicina 0,15g L^{-1} (antibiótico) e foram acondicionados em banho-maria, as placas por sua vez foram levadas para a bancada de fluxo laminar vertical.

O meio foi distribuído nas placas, aproximadamente 35 mL por placa, após atingir o estado sólido, alíquotas de 0,1 mL de cada diluição, foram espalhadas com uma alça de Drigalski na superfície da placa contendo o meio de cultura esterilizado (Figura 21).

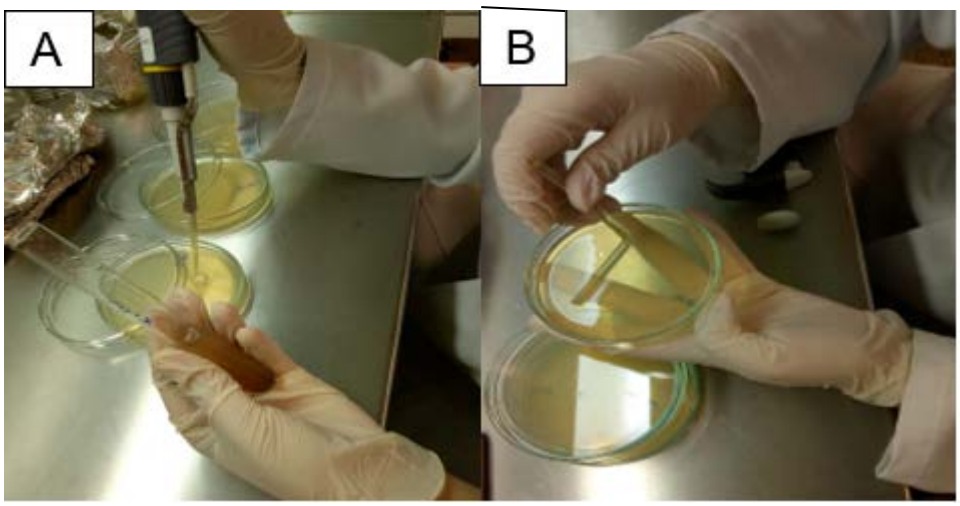

Figura 21. (A) inoculação da placa de petri com 0,1 mL da diluição e (B) espalhamento do inoculo sobre a placa com alça de Drigalski.

Ao fim da inoculação, as placas foram incubadas por 48h na estufa microprocessada para cultura bacteriológica. Em intervalos de 12 em 12h foi realizado contagem em placas até que atingisse as 48h de incubação. A determinação do número de células foi feita, multiplicando-se o número de colônias presentes na diluição (placas que continham de 20 a 200 colônias) pelo fator de diluição correspondente e pelo volume da amostra (DÖBEREINER et al., 1995).

3.5 Análise estatística

As análises estatísticas dos dados obtidos em cada tratamento foram realizadas utilizando-se o software R (R CORE TEAM, 2018). Através dos pacotes, ggplot2 (WICKHAM, 2009), lattice (SARKAR, 2008) e tidyverse (WICKHAM, 2017), foram executadas análises paramétricas e não paramétricas

Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk ($p>0,01$) e de Levene ($p>0,01$), para verificação da normalidade homocedasticidade residuais, respectivamente, seguido de transformações pelo modelo da família Box-Cox a fim de adequação de distribuição normal caso fossem necessários. Só então, os resultados foram submetidos à análise de variância, teste de regressão para as

doses de cinza e teste de Scott-Knott para o manejo de aplicação ao nível de significância de 5% de probabilidade.

Quando a hipótese da homocedasticidade residuais dos dados mostrou-se não verdadeira, aplicou-se o método estatístico não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p>0,05$) com complemento para comparações múltiplas de médias de teste de Fisher-Bonferroni ($p>0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro período de colete, referente à época de chuvas, dentre as variáveis analisadas, as bactérias diazotróficas cultivadas em meios JNFb e JMV apresentaram diferença significativa entre tratamentos, sendo observado efeito isolado para as doses de cinza a 5% (Tabela 3). Resultado esse igualmente observado para a enzima arilsulfatase nas doses de cinza a 1% de probabilidade de erro.

As variáveis respiração basal e enzima fosfatase ácida se destacaram por apresentarem interação significativa entre o fator 1 (manejo de aplicação) e o fator 2 (doses de cinza vegetal) a 5% de probabilidade de erro.

As demais variáveis não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, como demonstram as tabelas 3 e 4, com o resumo dos resultados obtidos na análise de variância (representados nas tabelas a partir dos valores do quadrado médio QM).

Tabela 3. Resumo das análises de variância referente às variáveis Bactérias diazotróficas (NFb, JNFb e JMV), Bactérias totais (BAC), Fungos totais (FUNGO) e Respiração basal (RESP), no período chuvoso.

Fator de variação	Variáveis					
	NFB	JNFB	JMV	BAC	FUNGO	RESP
Bloco	2,172^{ns}	17,024^{ns}	0,445^{ns}	0,527^{ns}	0,376^{ns}	810700^{ns}
Manejo	0,001^{ns}	5,044^{ns}	2,594^{ns}	0,140^{ns}	0,087^{ns}	82742^{ns}
Erro a	4,226	3,224	2,018	0,675	0,665	238862
Cinza	10,955^{ns}	7,751*	13,708*	0,304^{ns}	0,099^{ns}	159530^{ns}
Linear	-	27,848*	56,058*	-	-	-
Quadrática	-	-	-	-	-	-
Erro b	6,672	2,588	1,884	0,436	0,168	138316
Manejo x cinza	2,503^{ns}	1,355^{ns}	2,479^{ns}	1,056^{ns}	0,112^{ns}	213284*
Erro c	5,888	1,242	1,558	0,532	0,185	56979
Média geral						
C.V. a (%)	49,18	60,54	58,41	10,84	17,90	34,68
C.V. b (%)	61,80	54,24	56,44	8,72	9,00	26,39
C.V. c (%)	58,06	37,57	51,33	9,63	9,46	16,94
Lambda (λ)	Log	log	log	log	Log	-
Shapiro-Wilk (p-valor)	0,02^{ns}	0,657^{ns}	0,224^{ns}	0,089^{ns}	0,017^{ns}	0,107^{ns}
Bartlett (p-valor)	0,928^{ns}	0,469^{ns}	0,425^{ns}	0,904^{ns}	0,795^{ns}	0,03^{ns}

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade $0,01 \leq p < 0,05$); ^{ns} não significativo ao nível ($p \geq 0,05$); C.V. Coeficiente de variância; Lambda (λ) fator de transformação do modelo da família Box-Cox.

Tabela 4. Resumo das análises de variância referente às variáveis, Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), Carbono da biomassa microbiana (CBM) e as enzimas β-glicosidase (BETA), Arilsulfatase (ARIL) e Fosfatase ácida (FOS), no período chuvoso.

Fator de variação	Variáveis				
	NBM	CBM	BETA	ARIL	FOS
Bloco	0,085ns	0,105ns	115369*	0,786ns	31934^{ns}
Manejo	0,007ns	0,084ns	865^{ns}	0,053ns	127^{ns}
Erro a	3,15ns	0,079	1948	0,281	3682
Cinza	0,871ns	0,031ns	17732^{ns}	0,681**	2092^{ns}
Linear	-	-	-	-	-
Quadrática	-	-	-	-	-
Erro b	0,916ns	0,064	18637	0,219	5200
Manejo x cinza	1,517ns	0,041ns	16495^{ns}	0,093ns	4118*
Erro c	1,567ns	0,049	13650	0,111	1518
Média geral					
C.V. a (%)	157,87	3,47	10,22	14,17	40,99
C.V. b (%)	114,18	3,11	31,63	12,52	48,70
C.V. c (%)	122,76	2,72	27,07	8,92	26,32
Lambda (λ)	Log	Log	-	Log	-
Shapiro-Wilk (p-valor)	0,326ns	0,005s	0,341ns	0,05ns	0,049ns
Bartlett (p-valor)	0,712ns	0,09ns	0,385ns	0,165ns	0,429ns
Kruskal-Wallis (p-valor)	-	0,446ns	-	-	-
Bonferroni(p-valor)	-	0,05s	-	-	-

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade $0,01 \leq p < 0,05$); ^{ns} não significativo ao nível ($p \geq 0,05$); C.V. Coeficiente de variância; Lambda (λ) fator de transformação do modelo da família Box-Cox.

No segundo período de coleta de solo, período de seca, dentre as variáveis analisadas, as bactérias diazotróficas quantificadas em meios NFb e JNFb apresentaram diferença significativa entre tratamentos, sendo observado efeito isolado para as doses de cinza a 5% e 1%, respectivamente. A população de bactérias diazotróficas que cresceram no meio NFb apresentaram seus resultados distribuídos em regressão quadrática, enquanto as do meio JNFb ajustaram-se ao modelo de regressão linear crescente (Tabela 5).

As enzimas β-glicosidase e Arilsulfatase apresentaram efeito isolado para as doses de cinza, enquadrando-se em regressão quadrática. Já a enzima Fosfatase ácida se destacou por apresentar interação significativa entre o fator 1 (manejo de aplicação) e o fator 2 (doses de cinza vegetal) a 5% de probabilidade (Tabela 6).

As demais variáveis não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, como demonstrado nas tabelas 3 e 4, as quais apresentam o resumo dos resultados obtidos na análise de variância (representados nas tabelas a partir dos valores do quadrado médio QM).

Tabela 5. Resumo das análises de variância referente às variáveis bactérias diazotróficas (meios de cultura NFB, JNFB e JMV), bactérias totais (BAC), fungos totais (FUNGO) e respiração basal (RESP), correspondente ao período de seca.

Fator de variação	Variáveis					
	NFB	JNFB	JMV	BAC	FUNGO	RESP
Bloco	0,533	1,006	0,361	1,264	0,423	125213
Manejo	0,127^{ns}	0,0005^{ns}	1,407^{ns}	0,022^{ns}	0,024^{ns}	10418^{ns}
Erro a	0,862	0,2398	0,273	0,109	0,005^{ns}	4729^{ns}
Cinza	1,287*	3,329*	1,071^{ns}	0,255^{ns}	0,226	21852
Linear	0,870*	13,731*	-	-	-	-
Quadrática	-	-	-	-	-	-
Erro b	0,223	0,5069	0,571	0,600	0,106	34050
Manejo x cinza	0,242^{ns}	0,341^{ns}	0,010^{ns}	0,440^{ns}	0,033^{ns}	4816^{ns}
Erro c	0,204	0,154	0,243	0,513	0,194	15994
Média geral						
C.V. a (%)	23,56	12,45	11,11	4,76	1,87	4,58
C.V. b (%)	11,98	18,10	16,16	11,14	7,99	12,31
C.V. c (%)	11,46	9,98	10,49	10,29	10,79	8,43
Lambda (λ)	Log	Log	Log	Log	Log	-
Shapiro-Wilk (p-valor)	0,166	0,729	0,273	0,028	0,037	0,001
Bartlett (p-valor)	0,278	0,231	0,569	0,810	0,039	0,005

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade $0,01 \leq p < 0,05$); ^{ns} não significativo ao nível ($p \geq 0,05$); C.V. Coeficiente de variância; Lambda (λ) fator de transformação do modelo da família Box-Cox.

Tabela 6. Resumo das análises de variância referente às variáveis nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), carbono da biomassa microbiana (CBM) e as enzimas β-glicosidase (BETA), Arilsulfatase (ARIL) e Fosfatase ácida (FOS), correspondente ao período seco.

Fator de variação	Variáveis				
	NBM	CBM	BETA	ARIL	FOS
Bloco	2,563	0,227	50959	1247	0,045
Manejo	2,017 ^{ns}	0,011 ^{ns}	90319 ^{ns}	55,66 ^{ns}	0,102 ^{ns}
Erro a	0,987	0,002	62942	211	0,007
Cinza	0,262 ^{ns}	0,023 ^{ns}	19617*	664*	0,049 ^{ns}
Linear	-	-	-	-	-
Quadrática	-	-	67,067	4157*	0,284*
Erro b	0,530	0,029	3749	114	0,023
Manejo x cinza	0,389 ^{ns}	0,023 ^{ns}	2095 ^{ns}	91,3 ^{ns}	0,089*
Erro c	1,025	0,021	7980	75,6	0,024
Média geral					
C.V. a (%)	80,51	0,64	53,50	32,2	1,68
C.V. b (%)	59,00	2,03	13,05	23,7	2,96
C.V. c (%)	82,03	1,73	19,04	19,26	3,00
Lambda (λ)	-	Log	-	-	-
Shapiro-Wilk (p-valor)	0,104	0,001	0,340	0,848	1,884
Bartlett (p-valor)	0,185	0,001	0,890	0,162	0,002

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade $0,01 \leq p < 0,05$); ^{ns} não significativo ao nível ($p \geq 0,05$); C.V. Coeficiente de variância; Lambda (λ) fator de transformação do modelo da família Box-Cox.

4.1.1 Bactérias totais

Para ambos os períodos de amostragem do solo, o número de bactérias totais não apresentou diferença significativa, no entanto foi possível observar a oscilação existente dentro de cada tratamento e como os valores se apresentaram quando comparados ao valor de referência (mata nativa), que foi usado para embasar o comportamento dos micro-organismos em um ambiente natural.

O crescimento bacteriano durante o período chuvoso foi superior ao valor de referência, conforme aumentaram-se as doses de cinza aplicadas e não incorporadas ao solo (Figura 22).

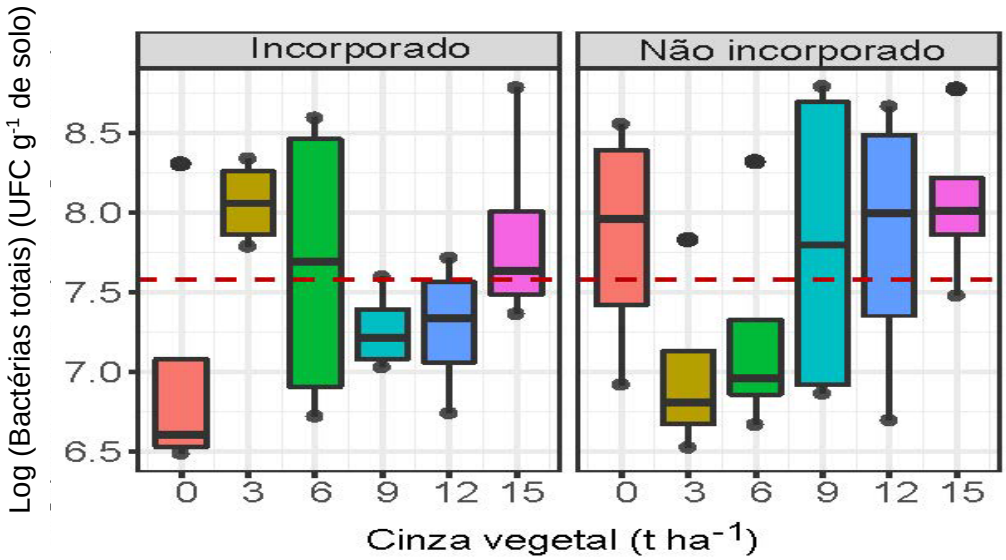

Figura 22. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias totais no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (7,58), obtido a partir da mata nativa local. *valores transformados para análise estatística.

No período seco, em ambos os manejos de aplicação da cinza vegetal, incorporado e não incorporado ao solo, e em todas as doses de cinza utilizadas, a população de bactéria se manteve acima do valor encontrada na mata nativa local (Figura 23).

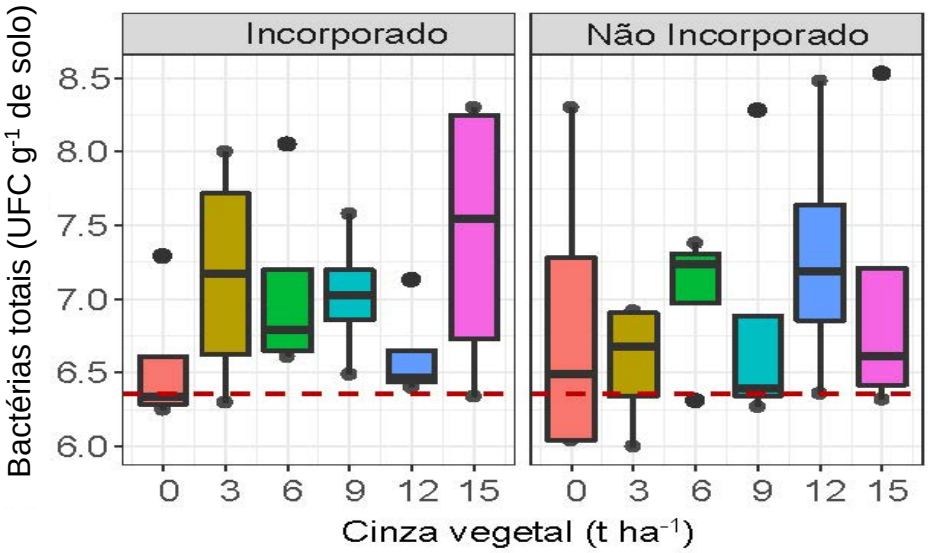

Figura 23. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias totais no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (6,35), obtido a partir da mata nativa local.

Esse resultado, embora expressivo, pode estar relacionado ao aumento inicial da população microbiana no solo, o qual pode ser resultado do desequilíbrio causado pelo aumento do material orgânico inserido ao sistema, (MERCANTE, 2001). Desse modo, não se pode afirmar qual população específica foi beneficiada pelo uso de cinza vegetal. No entanto, quando nos referimos a análise e quantificação de bactérias totais no solo, o resultado apresentou-se promissor.

Siqueira et al. (1994) explicam que quando encontrada uma elevada quantificação de micro-organismos, isto nada mais é que o resultado de inúmeros processos que alteram o ambiente que estes micro-organismos residem, fazendo com que a densidade dessas populações antes em equilíbrio, seja modificada. Isto corrobora aos resultados aqui encontrados, uma vez que o sistema agrícola em questão recebeu sucessivas aplicações de cinza ao longo da condução do experimento.

Santos (2015), ao estudar os bioindicadores de qualidade de solo de um fragmento de floresta estacional no município de Corumbataí do Sul – PR, encontrou em seus sítios amostrais caracterizados como mata nativa local $2,6x10^5$ a $2,4x10^6$ UFC g^{-1} de solo. Já neste estudo, a mata nativa apresentou valores que variaram de $3,8x10^7$ a $2,23x10^6$ UFC g de solo, no período chuvoso e seco, respectivamente.

No período seco, houve redução do número de unidades formadoras de colônias tanto para os tratamentos com cinza quanto para a mata nativa, quando comparadas ao período chuvoso. Porém, os tratamentos com cinza no período seco quantificaram mais UFCs do que a mata nativa. Isso pode ser explicado pela maior capacidade de retenção de água no solo propiciada pela inserção de cinza vegetal no processo produtivo agrícola, corroborando com o estudo realizado por BRUNELLI; PISANI JR., 2006.

Rego Neto (2017) ao comparar três tipos de corretivos (carbonato de cálcio, pó de concha e cinza vegetal) e quantificar bactérias presentes em solos ácidos, verificou que a aplicação de cinza vegetal proporcionou aumento no número de bactérias de acordo com o tempo, justificando essa resposta à presença de nutrientes presentes na composição deste resíduo, como potássio, fósforo, cálcio e magnésio.

4.1.2 Fungos Totais

Para a variável fungos totais, quantificados no período chuvoso, não houve diferença significativo entre os tratamentos. E quando comparados os valores da população fúngica dos tratamentos com o valor de referência, o crescimento de fungos com a aplicação de cinza vegetal se aproximou em muitos tratamentos, principalmente sem incorporação, do valor encontrado na mata nativa (Figura 24).

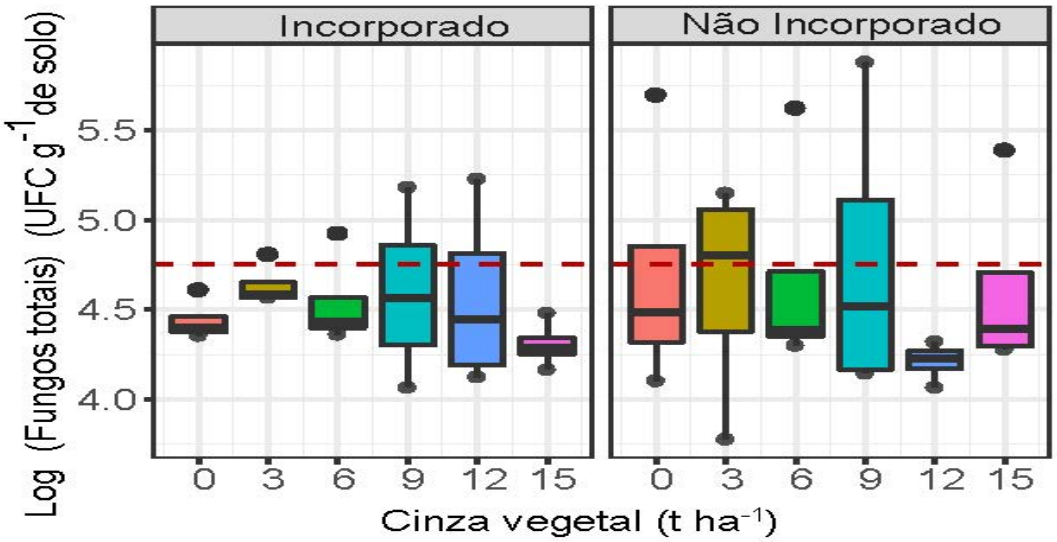

Figura 24. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de fungos totais no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (4,75), obtido a partir da mata nativa local. *valores transformados para análise estatística.

Já no período seco, o crescimento de fungos, mesmo não apresentando diferença significativa entre os tratamentos, foi reduzido drasticamente quando comparado ao período chuvoso. Contudo, os resultados do período seco se mantiveram superior ao valor de referência em todos os tratamentos, exceto no tratamento com 15 t ha^{-1} de cinza vegetal não incorporada ao solo (Figura 25).

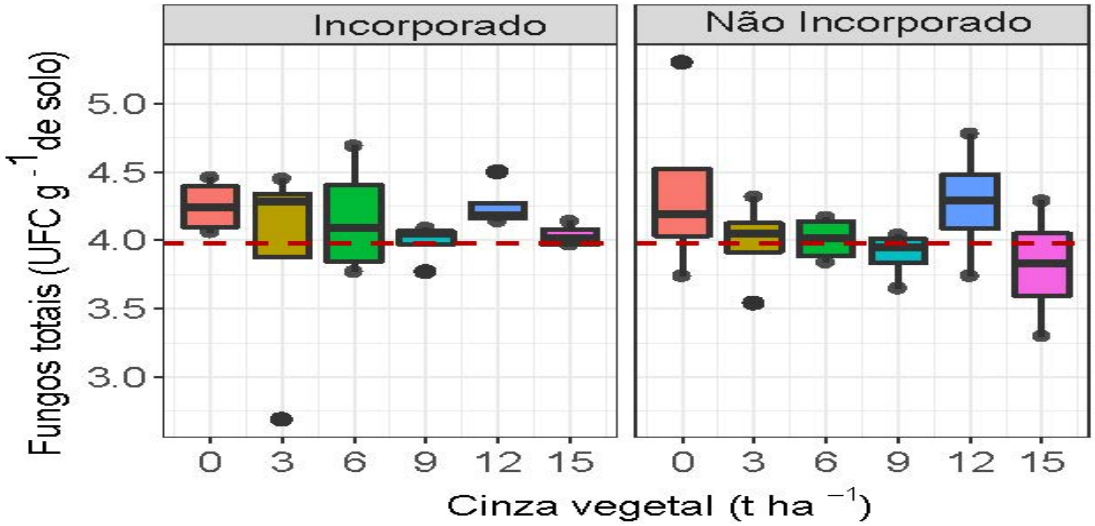

Figura 25. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de fungos totais no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,98), obtido a partir da mata nativa local.

Santos (2015), também quantificou em seu estudo a presença de fungos nos sítios amostrais de mata nativa, onde foi relatado $1,44x10^6$ a $2,09x10^4$ UFC g de solo. Não corroborando aos dados encontrados na mata nativa local, de $5,62x10^4$ a $9,54x10^3$ UFC g^{-1} de solo, nos períodos distintos de coleta.

Nos dois períodos de coleta, a quantidade de fungos presentes nos tratamentos manteve-se muito próxima aos valores da mata nativa. Evidenciando que para os fungos, decompositores primários de resíduos vegetais, a incorporação e aumento de material orgânico ao sistema se torna benéfico (CARNEIRO et al., 2004).

Uma das principais mudanças atribuídas a aplicação de cinza vegetal ao solo é a elevação do pH. Diversos autores relatam o efeito corretivo da cinza em suas pesquisas (PRADO, CORRÊA; NATALE, 2002; GUARIZ et al., 2009; BEZERRA, 2013; SOUZA et al., 2013; BONFIM-SILVA et al., 2013). O menor crescimento fúngico quando comparado ao crescimento bacteriano pode ser atribuído a elevação de pH causado pela cinza vegetal, onde pH ácidos favoreceriam o crescimento fúngico.

Neste estudo, o pH médio das amostras ficou em torno de 4,5 e 5,5. O potencial hidrogeniônico alcançado pela adição de cinza foi maior do que o

encontrado no solo de mata nativa, no qual se manteve próximo a 4,5. O efeito do pH pode ser observado sobre o crescimento microbiano local, com crescimento de bactérias próximo a $3,8x10^7$ e de fungo sendo $5,62x10^4$ UFC g^{-1} de solo. Resultando em um número de fungos menor que 1% das bactérias encontradas no solo.

4.1.3 Bactérias Diazotróficas

Quando analisado os resultados do crescimento das bactérias diazotróficas no período chuvoso, dois meios de cultura apresentaram efeito significativo isolado para cinza e um terceiro não apresentou diferença significativa entre os tratamentos NFb, JMV e JNFb*,* respectivamente. Para os meios NFb e JMV houve ajuste ao modelo linear crescente em ambas análises.

No período seco, o crescimento bacteriano avaliado utilizando os meios de cultura NFb e JNFb apresentaram significância isolada para as doses de cinza, com ajuste ao modelo quadrático e linear de regressão, respectivamente. No entanto, o crescimento bacteriano em meio de cultura JMV não apresentou diferença significativa em nenhum tratamento.

Observou-se que, para o meio NFb no período chuvoso, a cinza vegetal incorporada ao solo a partir de 6 t ha^{-1} resultou num crescimento bacteriano maior que o encontrado na mata nativa. E quando se tem a cinza não incorporada ao solo, essa resposta se dá a partir da dose de 3 t ha^{-1} de cinza vegetal (Figura 26).

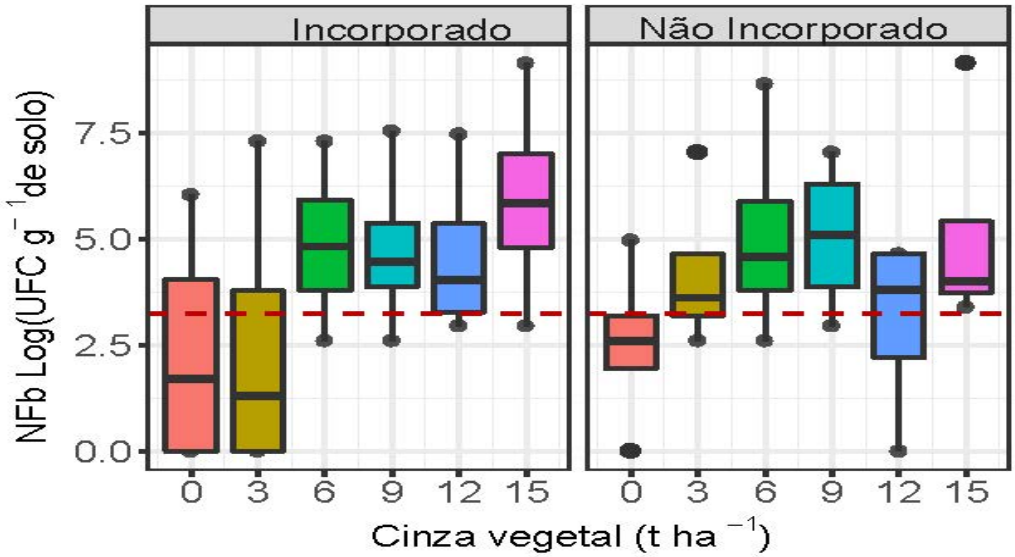

Figura 26. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura NFb no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,23) obtido a partir da mata nativa local.

No período seco, o maior crescimento de bactérias diazotróficas em meio NFb deu-se na dose de 12,75 t ha^{-1} de cinza vegetal, resultando em $1,86x10^4$ UFC g^{-1} de solo. Quando comparamos os resultados com o valor de referência, todos os tratamentos que receberam cinza vegetal foram superiores, apenas a testemunha foi inferior ao valor de referência (Figura 27).

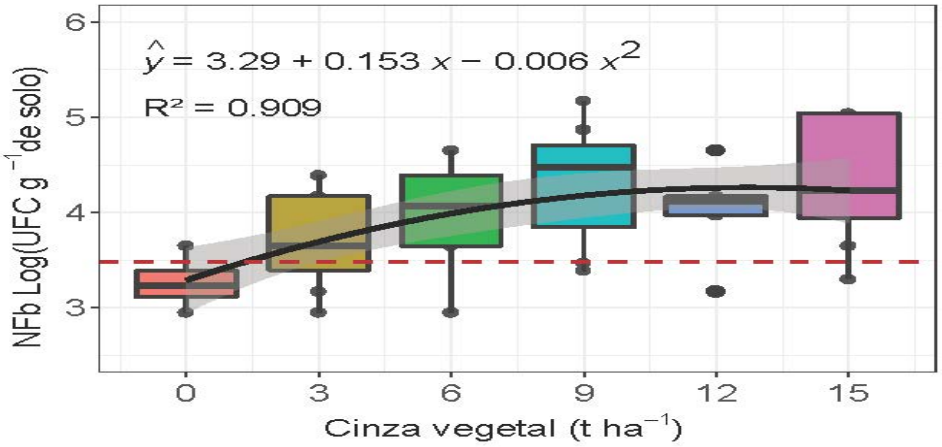

Figura 27. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura NFb no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,48) obtido a partir da mata nativa local.

Já as bactérias cultivadas em meio JNFb por se ajustarem ao modelo linear crescente, demonstrando maior crescimento com a dose de 15 t ha^{-1} de cinza. E quando comparado as doses de cinza com o valor de referência, a dose de 15 t ha^{-1} foi a que mais se equiparou à mata nativa. Os demais tratamentos ficaram abaixo do valor de referência no período chuvoso.

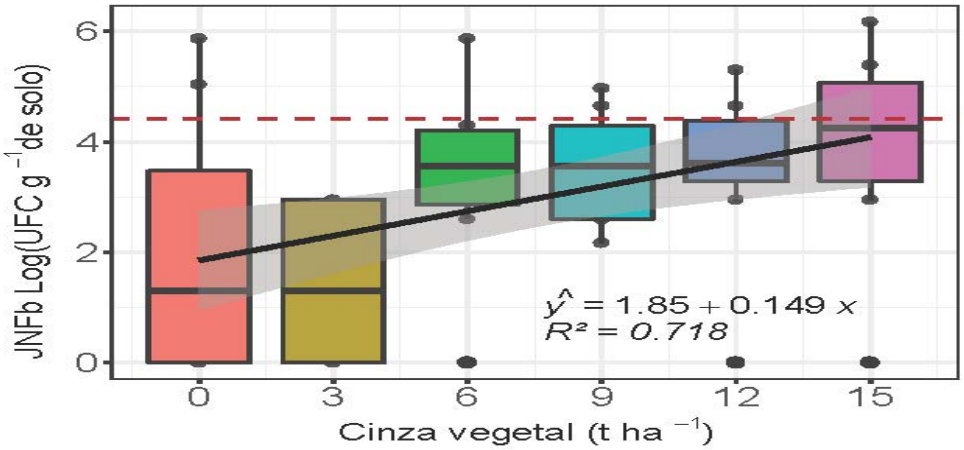

Figura 28. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura JNFb no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (4,41) obtido a partir da mata nativa local. Ŷ= número de unidades formadoras de colônia, X= cinza vegetal, * significativo a 5% de probabilidade.

No segundo período de análise, os resultados obtidos com o meio JNFb foram similares ao primeiro período, ajustando os resultados de crescimento bacteriano ao modelo de regressão linear. Todavia, no período seco, a dose que mais assemelhou-se à mata nativa foi de 3 t ha^{-1}, com o crescimento de $2,9x10^3$ UFC g^{-1} de solo (Figura 29).

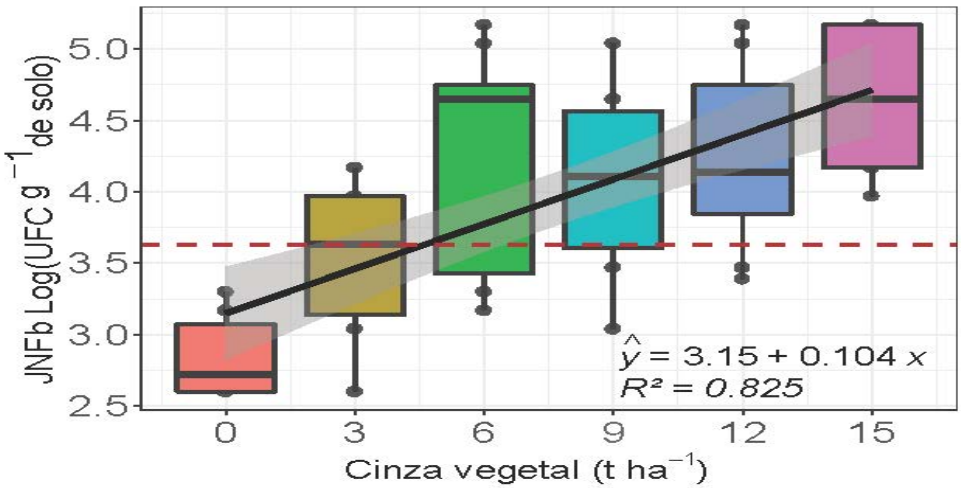

Figura 29. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura JNFb no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,63) obtido a partir da mata nativa local. Ŷ= número de unidades formadoras de colônia, X= cinza vegetal, * significativo a 5% de probabilidade.

O crescimento das bactérias fixadoras de nitrogênio em meio JMV no período chuvoso apresentou efeito isolado para as doses de cinza, ajustando-se ao modelo linear. A partir da aplicação de 6 t ha^{-1} de cinza todos os tratamentos, independente do manejo de incorporação, conseguiram manter-se em níveis similares ao valor de referência (Figura 30).

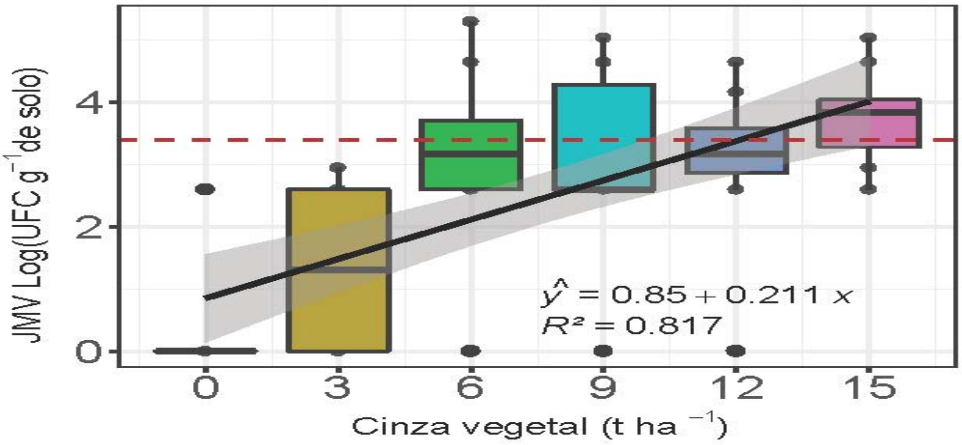

Figura 30. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura JMV no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,40) obtido a partir da mata nativa local. Ŷ= número de unidades formadoras de colônia, X= cinza vegetal, * significativo a 1% de probabilidade.

No período seco não houve diferença estatística entre os tratamentos. No entanto, o crescimento bacteriano manteve-se similar ao período chuvoso em todos os tratamentos, efeito também observado no valor de referência (Figura 31).

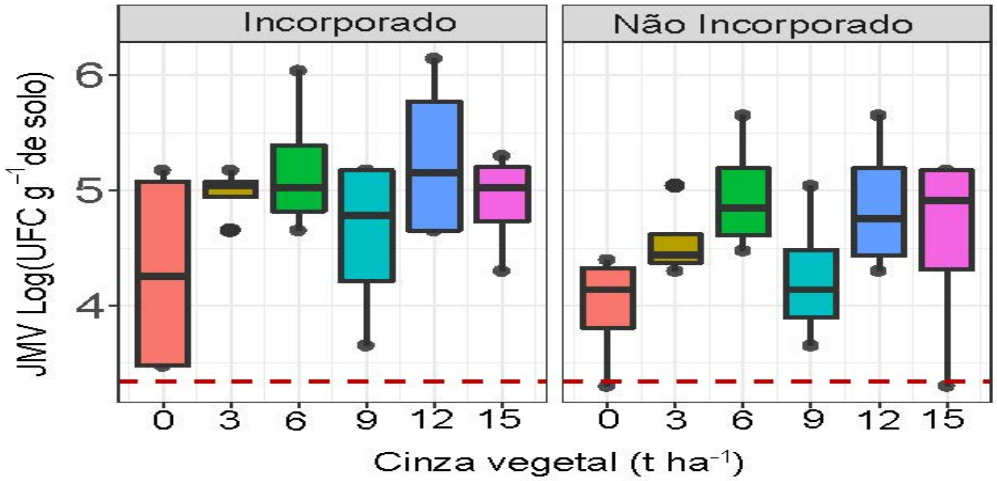

Figura 31. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o número de bactérias diazotróficas em meio de cultura JMV no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (3,34) obtido a partir da mata nativa local.

De maneira geral, a adição de material orgânico ao solo por meio do uso de cinza vegetal afetou o crescimento das bactérias diazotróficas à medida em que se elevou a dose de cinza aplicada. Apresentando em sua maioria, valores superiores à mata nativa, corroborando aos resultados encontrados por Ferreira et al. (2017), que ao estudarem a população e atividade microbiana do solo em sistemas agroecológicos de produção, encontraram o número de micro-organismos fixadores de nitrogênio nas amostras de solo cultivado nos sistemas de semeadura e plantio direto, maior que os encontrados em mata nativa.

Durante condução das análises realizadas em laboratório, todas as amostras foram submetidas a análise de pH. Todos os tratamentos com cinza vegetal tiverem o pH do solo elevado a níveis superiores a mata nativa, que se encontrava com pH ácido de aproximadamente 4,1. Estas características implicam diretamente na resposta dos micro-organismos diazotróficos presentes no solo, uma vez que, além desses fatores, o pH e nutrientes disponíveis podem causar variações na estrutura desses micro-organismos no solo (REARDON; GOLLANY; WUEST, 2014).

Deste modo, assim como Souza (2011), ao quantificar bactérias diazotróficas em solos reconstruídos após a mineração de carvão, as bactérias diazotróficas relacionadas neste estudo, mostraram-se componentes viáveis como indicadores de qualidade do solo em áreas degradadas, pois possibilitaram diferentes respostas ao longo de cada tratamento.

4.1.4 Carbono da Biomassa Microbiana

No período chuvoso, a variável carbono da biomassa microbiana não apresentou efeito significativo pelo teste de Bonferroni a 5% de probabilidade. E quando comparado o resultado de todos os tratamentos com o valor de referência, foi possível observar que o valor de referência se mostrou superior, indicando índices de carbono maior na área de mata nativa (Figura 32).

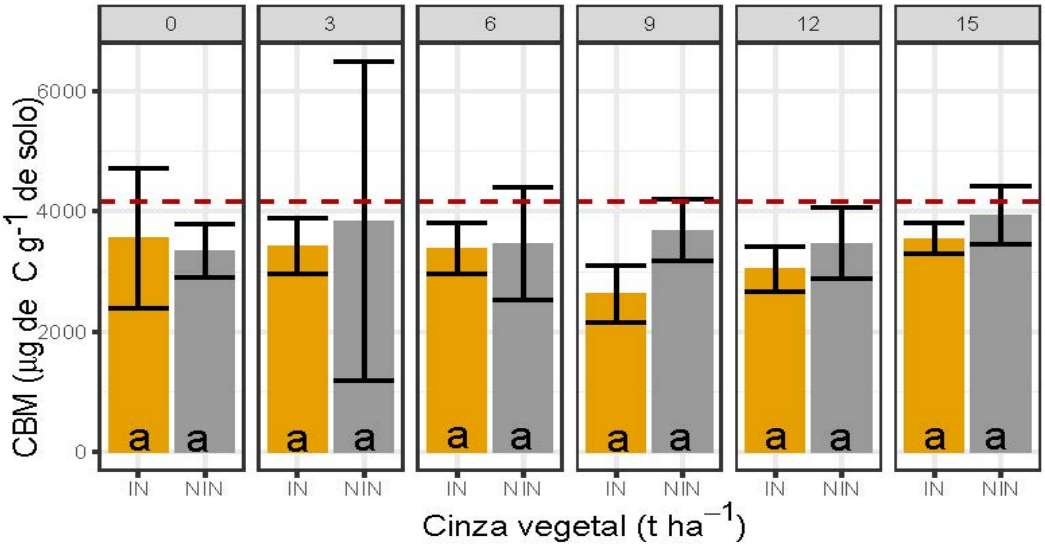

Figura 32. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o carbono da biomassa microbiana do solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado (IN) e não incorporado (NIN). Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (4.163,4 µg de C g^{-1} de solo) obtido a partir da mata nativa local. Teste Bonferroni a 5% de probabilidade.

No período seco, os valores obtidos na análise passaram no teste de normalidade e foram submetidos ao teste de média Scott-Knott e análise de regressão. No entanto, não apresentou diferença significativa entres os tratamentos.

Independente de não apresentarem diferenças estatísticas, todos os tratamentos, com exceção da testemunha não incorporada, mantiveram o nível de carbono da biomassa microbiana equivalentes aos encontrados na mata nativa. O tratamento sem adição de cinza e sem revolvimento do solo apresentou níveis de carbono da biomassa microbiana elevados, no qual sua variação foi diferente dos demais tratamento alcançando resultados superiores tanto a mata nativa quanto aos tratamentos com doses de cinza (Figura 33).

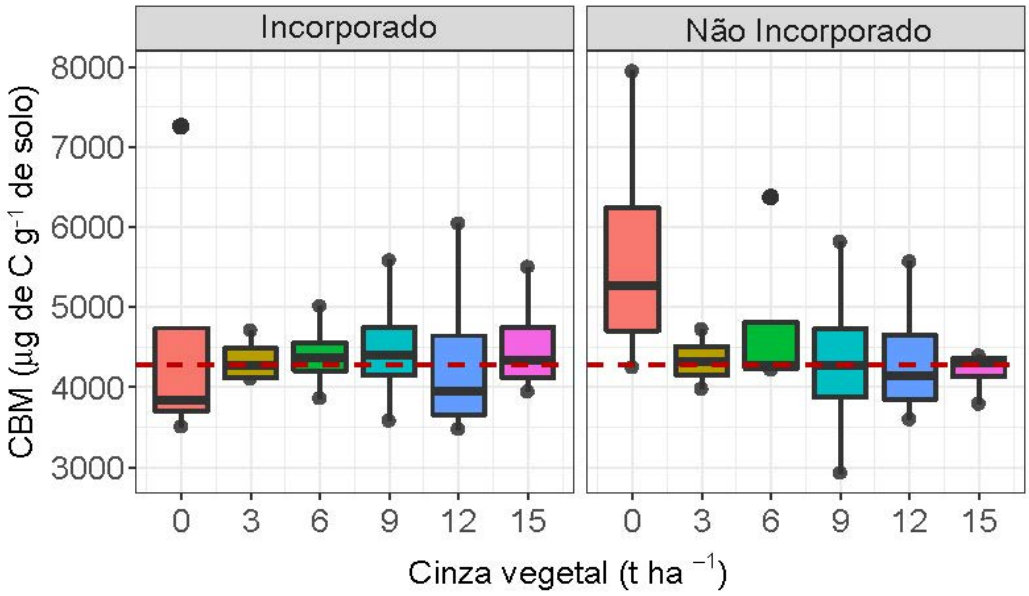

Figura 33. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o carbono da biomassa microbiana do solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (4.281,46 µg de C g^{-1} de solo) obtido a partir da mata nativa local.

Facci (2008) estudou o potencial de diversas variáveis microbiológicas como indicadoras da qualidade de um latossolo vermelho eutroférrico sob diferentes usos. Neste estudo foram realizados analises em solo de mata nativa, seringueira, plantio direto e plantio convencional. A autora fez coletas em duas épocas referentes ao verão e inverno, e encontrou maior valor de carbono microbiano para mata nativa, não corroborando aos resultados deste trabalho, onde carbono da mata nativa e o carbono encontrado nos tratamentos com cinza vegetal mantiveram-se em níveis similares.

Mercante et al. (2004), associam a elevação do carbono microbiano a maior imobilização desse nutriente, o que resulta em menores perdas no sistema solo-planta deste nutriente, uma vez que essa imobilização é apenas temporária.

Kaschuk, Alberton e Hungria (2010), revisando dados de mais de 30 anos sobre a biomassa microbiana em solos brasileiros, constataram que solos sob cultivo apresentam teores de carbono da biomassa microbiana inferior aos encontrados em mata nativa. Neste caso, pode-se associar a utilização de cinza vegetal ao aporte de carbono da biomassa microbiana, onde a cinza vegetal

propiciou ao solo da pastagem em recuperação teores de carbono semelhantes a mata nativa.

A adição de cinza ao Neossolo Quartzarênico associado as intempéries climatológicas da região influenciaram diretamente a presença de carbono microbiano. Madari et al. (2005) afirmam em seu estudo sobre o efeito de diferentes manejos do solo sobre o carbono orgânico no sul do Brasil, que a retenção do carbono depende das condições climáticas, do tipo de solo e resíduos culturais depositados.

4.1.5 Nitrogênio da Biomassa Microbiana

Para a variável nitrogênio da biomassa microbiana, no período chuvoso não houve diferença entre os tratamentos. No entanto, quando comparado todos os tratamentos com aplicação de cinza vegetal com o valor de referência (mata nativa), foi possível observar que de maneira geral, os tratamentos foram análogos ao valor de referência (Figura 34).

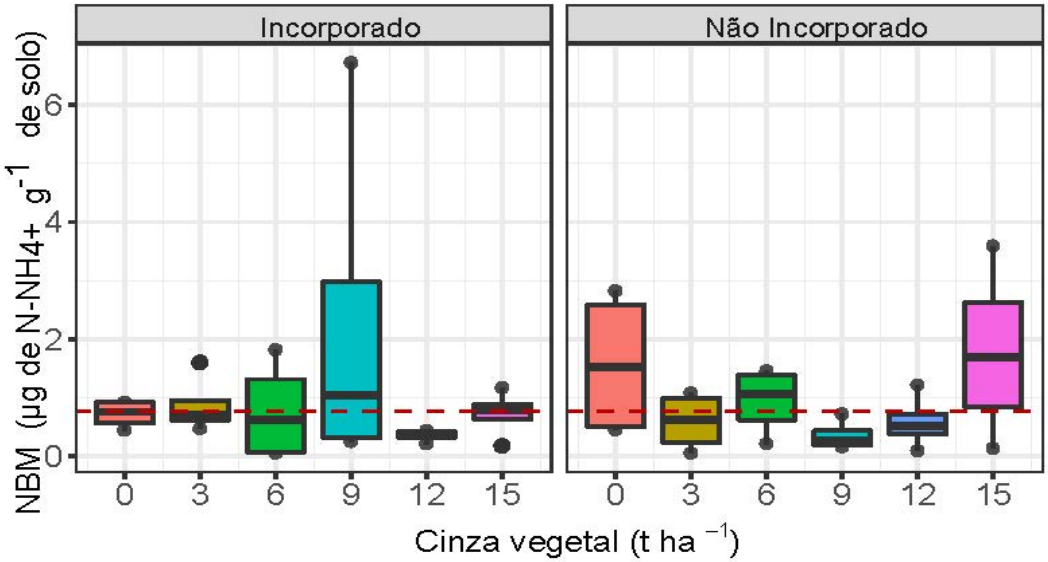

Figura 34. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o nitrogênio da biomassa microbiana do solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (0,76) obtido a partir da mata nativa local.

Semelhante ao resultado encontrado no período chuvoso, o nitrogênio da biomassa microbiana não apresentou diferença entre tratamentos. Mas a principal diferença encontrada foi que no período de seca, o nível de nitrogênio nos tratamentos com cinza vegetal foi superior ao encontrado no valor de referência (Figura 35).

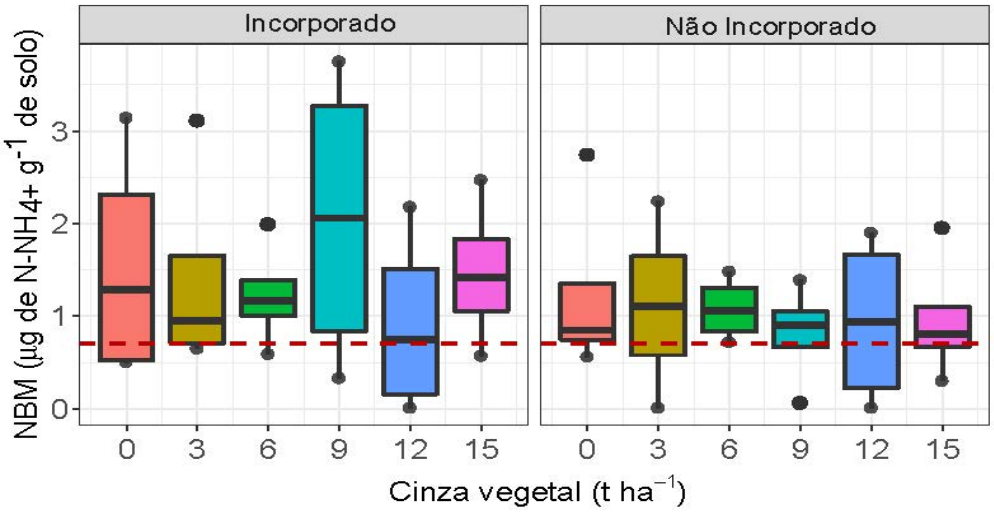

Figura 35. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre o nitrogênio da biomassa microbiana do solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (0,71) obtido a partir da mata nativa local.

Ao contrário do que aconteceu na dinâmica deste sistema, Cenciani et al. (2009) ao compararem a diversidade e a biomassa microbiana de solos de floresta amazônica e pastagens registraram uma redução acentuada no nitrogênio da biomassa microbiana na época menos chuva, correspondente a 80% menos do que na época mais chuvosa. O aumento do nitrogênio da biomassa microbiana reflete a maior imobilização deste nutriente pelos micro-organismos do solo, influenciados pela precipitação e taxa de decomposição (GAMA-RODRIGUES et al., 2005).

Peres et al. (2005) em estudo realizado no Distrito Federal sobre o nitrogênio da biomassa microbiana sob diferentes sistemas de manejo incluindo a mata nativa local, os autores encontraram maiores teores de nitrogênio de biomassa microbiana em solos não perturbados (mata nativa) do que em solos

com intensa ou pouca atividade de manejo, sendo esse valor superior em todas as épocas analisadas (antes do preparo do solo, 30 dias após a germinação, floração e após colheita da soja). Não corroborando aos resultados aqui descritos, no qual o nitrogênio da biomassa microbiana apresentou teores iguais ou superiores a mata nativa. Esse resultado pode estar associado ao baixo teor de nitrogênio presente na cinza vegetal (ANDRIESSE, 1987; OBERNBERGER et al., 2006; BEZERRA, 2013), resultando elevação da imobilização de nitrogênio pelos micro-organismos presentes no solo, ao invés de sua mineralização.

O manejo de incorporação da cinza vegetal ao solo não resultou em dados com diferenças significativas em relação ao nitrogênio da biomassa microbiana. Porém, Evangelista, et al. (2013) ao estudarem os atributos microbiológicos do solo em cultivo orgânico e convencional de cana-de-açúcar, no período chuvoso e período de estiagem, no município de Goiatuba-GO, obtiveram índices de nitrogênio da biomassa microbiana no manejo sem revolvimento do solo superiores aos demais tratamentos, incluindo a mata nativa, nos dois períodos de amostragem.

Almeida et al. (2016) ao analisarem os indicadores de qualidade do solo em cultivos sob deferente distribuição temporal do plantio de cana-de-açúcar, assim como, Leite et al. (2013) estudando a qualidade química do solo e dinâmica de carbono sob monocultivo e consórcio de macaúba e pastagem, encontraram maiores valores de nitrogênio sob vegetação nativa do cerrado.

Corroborando a este estudo tem-se Campos et al. (2013) que ao determinarem os efeitos de diferentes sistemas de manejo do solo (plantio convencional, plantio direto e cerrado nativo) sobre os estoques de carbono orgânico de um Latossolo no Cerrado do Piauí, também avaliaram nitrogênio e encontraram valores semelhantes no solo do cerrado nativo e dos sistemas de manejo.

4.1.6 Respiração Basal

A respiração basal durante o período chuvoso apresentou interação entre as doses de cinza e o manejo de aplicação, no qual foi possível observar a

diferença existente entre os manejos na dose 15 t ha^{-1}, onde o tratamento sem incorporação da cinza apresentou o melhor resultado (Figura 36).

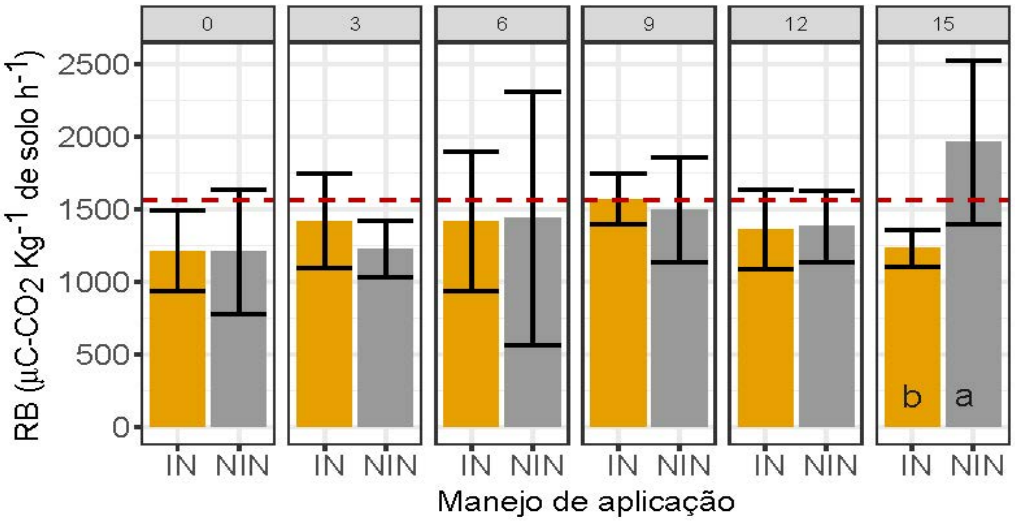

Figura 36. Efeito do manejo de aplicação sobre a respiração basal do solo sob área de pastagem, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (1.558,9 µC-CO_2 kg^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local. * significativo a 5% de probabilidade. IN- incorporado e NIN- não incorporado. Teste de Scott-Knott aplicado apenas na dose de 15 t ha^{-1}.

O desdobramento estatístico para as doses de cinza foi significativo somente no manejo não incorporado, ajustando-se ao modelo linear de regressão. Os resultados obtidos na maior dose de cinza vegetal foram superiores ao valor de referência.

Já a cinza aplicada por meio da incorporação ao solo não apresentou efeito significativo sobre a respiração basal, contudo, apresentou resultados semelhantes à mata nativa nos tratamentos com 3, 6 e 9 t ha^{-1} de cinza vegetal (Figura 37).

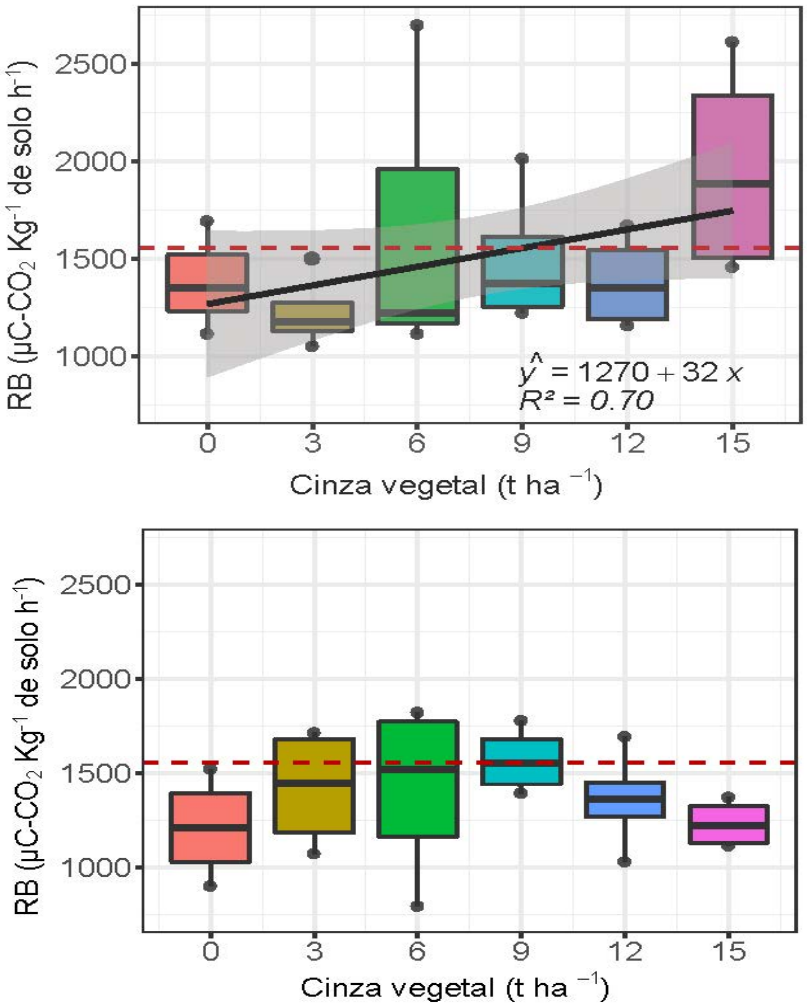

Figura 37. Efeito da aplicação de cinza vegetal não incorporada/incorporada ao solo sobre a respiração basal, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (1.558,9 µC-CO_2 kg^{-1} de solo h^{-1}), obtido a partir da mata nativa local. Ŷ=respiração basal, X= cinza vegetal, * significativo a 5% de probabilidade.

A respiração basal no período seco não resultou em diferença significativa entre os tratamentos. Mas em ambos os manejos de incorporação, a respiração basal na dose de 6 t ha^{-1} de cinza vegetal se manteve igual ao valor de referência (Figura 38).

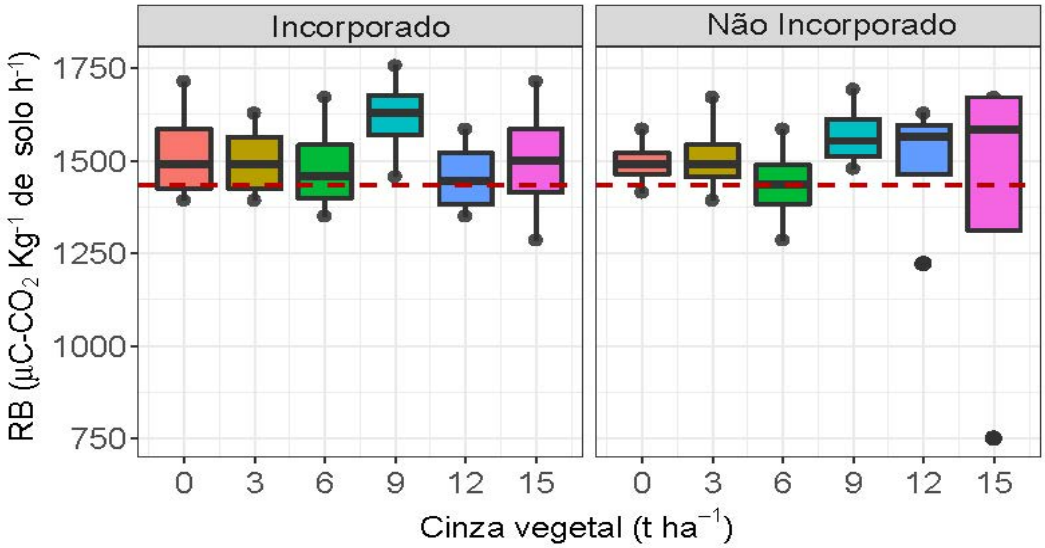

Figura 38. Efeito do manejo de aplicação sobre a respiração basal do solo sob área de pastagem, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (1.435,71 µC-CO_2 kg^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local.

Ao fazer uso da aplicação de cinza vegetal ao solo, eleva-se o fornecimento de carbono no sistema, gerando efeito linear crescente na respiração basal conforme aumenta-se a quantidade de cinza no período chuvoso, aplicada sem incorpora-la ao solo. Pragana et al. (2012), em pesquisa sobre os atributos biológicos de um latossolo amarelo no cerrado piauiense, explicam que a disponibilidade de carbono presente no solo é um dos fatores que mais contribuem para o aumento da respiração basal.

Silva et al. (2012), no entanto, ao analisarem diversos atributos biológicos em solos agrícolas, florestais e pastagem no Estado do Rio de Janeiro, analisaram a respiração basal do solo e obtiveram maiores resultados na área de floresta quando comparada aos demais tratamentos.

Almeida et al. (2016), não encontraram diferença significativa enquanto avaliavam a respiração basal do solo, porém observaram que os valores foram maiores na mata nativa onde ocorre maior acúmulo serapilheira e matéria orgânica no solo. Seguindo essa premissa, no período chuvoso os tratamentos com a maior dose de cinza vegetal resultaram em uma maior respiração basal do solo, justamente pelo elevado aporte de material orgânico no sistema.

Pragana et al (2012), afirmam que a medida que sistemas agrícolas são implantados, descaracterizando o que até então era mata nativa, ocorre a redução dos teores de carbono da biomassa microbiana e N-total e consequentemente eleva-se a respiração basal no solo. Devido a teores estáveis de CBM e NBM encontrados neste estudo, a respiração basal do solo dos tratamentos também mantêm seus níveis similares a mata nativa.

4.1.7 Enzima Fosfatase Ácida

A enzima fosfatase ácida apresentou interação entre as doses de cinza e os manejos de aplicação a 10 % de significância no período chuvoso, no qual foi possível observar a diferença existente entre os manejos somente nas doses 0 e 9 t ha^{-1}, havendo maior concentração de nitrofenol no manejo não incorporado e incorporado, respectivamente (Figura 39).

O valor de referência destaca-se por apresentar resultado superior em todos os manejos nas doses 12 e 15 t ha^{-1}.

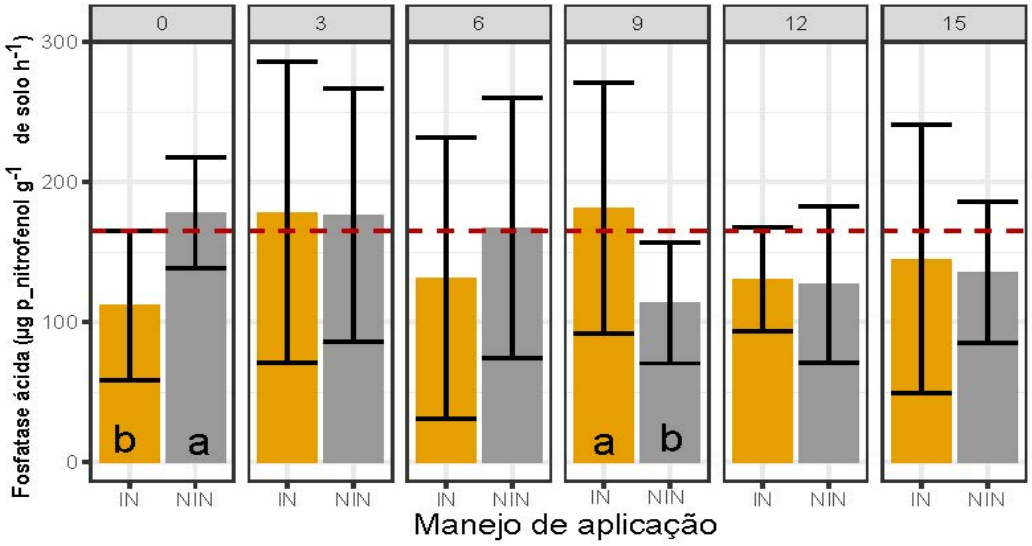

Figura 39. Efeito do manejo de aplicação sobre a enzima fosfatase ácida no solo em área de pastagem, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (165,12 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local. * significativo a 5% de probabilidade. IN- incorporado e NIN- não incorporado. Teste de Scott-Knott aplicado apenas nas doses de cinza de 0 e 9 t ha^{-1}.

Durante o desdobramento estatístico para analisar a cinza dentro dos manejos de aplicação incorporado e não incorporado, observou-se que resultados não foram significativos. Contudo, os tratamentos no manejo incorporado de 3 e 9 t há$^{-1}$ e não incorporado de 0, 3 e 9 t há$^{-1}$ apresentaram valores equivalentes ao valor de referência (Figura 40).

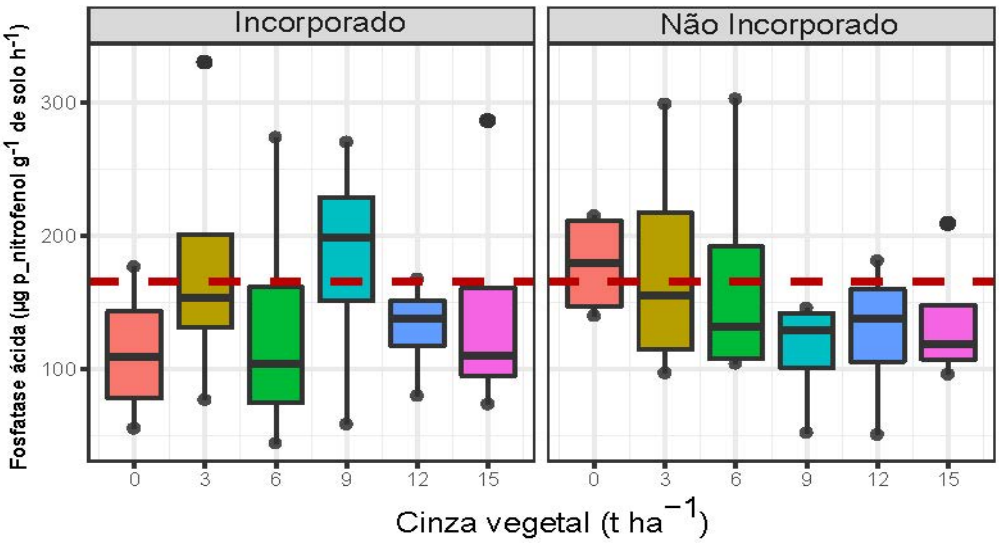

Figura 40. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima fosfatase ácida no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (165,12 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local.

Houve interação significativa entre as doses de cinza vegetal e manejos de incorporação para a enzima fosfatase ácida (Figura 39).

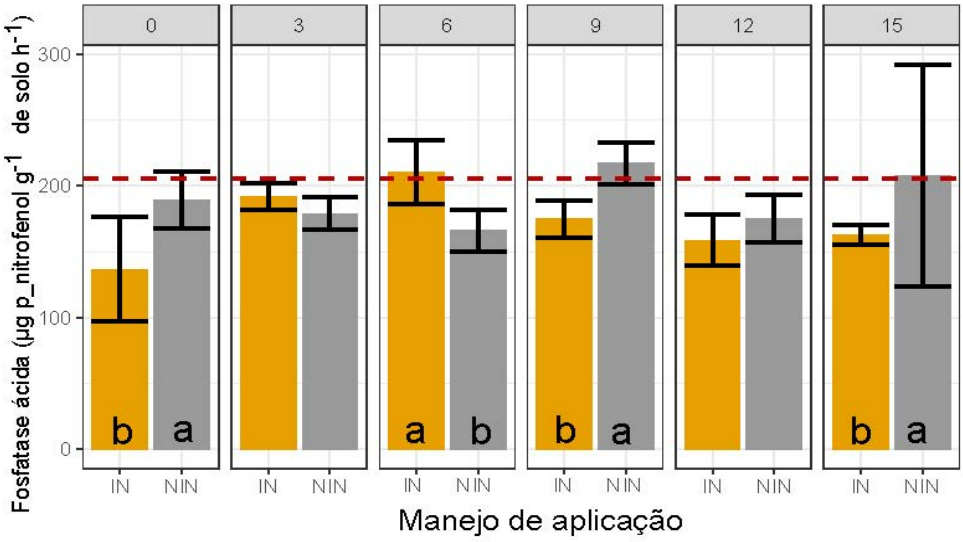

Figura 41. Efeito do manejo de aplicação sobre a enzima fosfatase ácida no solo em área de pastagem, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (205,48 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local. * significativo a 5% de probabilidade. IN- incorporado e NIN- não incorporado. Teste de Scott-Knott aplicado apenas nas doses de cinza de 0 e 9 t ha^{-1}.

O desdobramento estatístico para analisar a cinza dentro dos manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, resultou em significativo, ajustando-se ao modelo quadrático de regressão e não significativo, respectivamente. A maior produção de nitrofenol (193,76 µg p-nitrofenol g^{-1} de solo.h^{-1}) no solo ocorreu na dose de 7,48 t ha^{-1}, com incremento de 22,59%.

Contudo, o tratamento com 9 t ha^{-1} de cinza vegetal não incorporada ao solo elevou a atividade da enzima fosfatase mais do que na própria mata nativa. Já no manejo incorporado o tratamento em destaque sendo superior ao valor de referência teve 6 t ha^{-1} de cinza aplicada ao solo. (Figura 42).

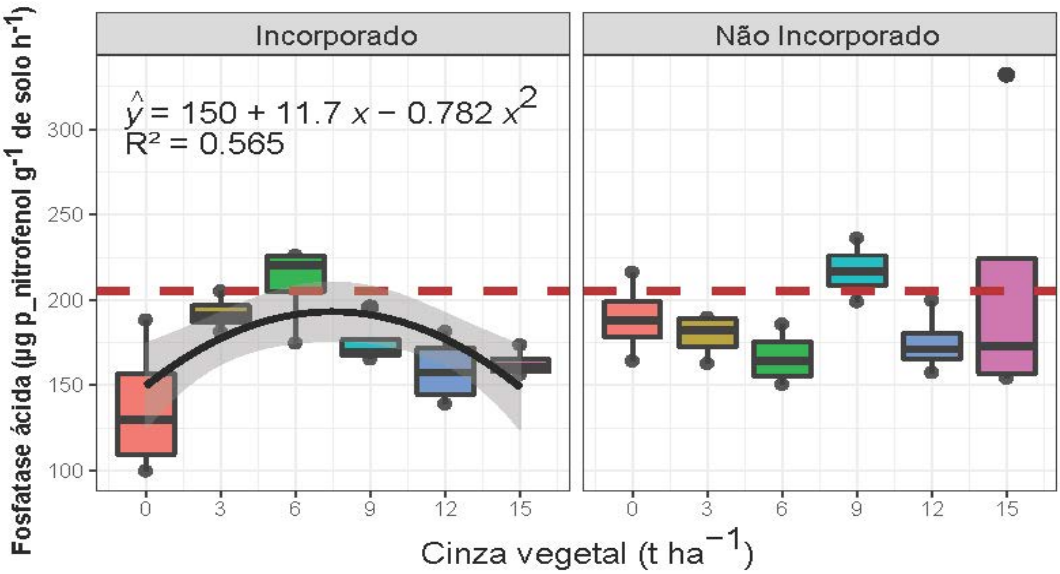

Figura 42. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima fosfatase ácida no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (205,48 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local.

Evangelista et al. (2012) ao analisarem a atividade enzimática do solo comparando a produção orgânica e convencional de cana de açúcar com a mata nativa em Goiás, foram encontrados níveis da fosfatase ácida superiores em área nativa de Cerrado no período chuvoso e de estiagem. A mata nativa deste estudo apresentou elevada atividade da enzima fosfatase ácida no período seco, no entanto os tratamentos com cinza vegetal na dose 6 e 9 t ha^{-1} no mesmo período, com manejo incorporado e não incorporado, respectivamente, foram superiores.

O fato da atividade enzimática da fosfatase ácida ser maior em áreas de mata nativa é explicado por Gatiboni et al. (2008), que ao realizarem um estudo sobre fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatases ácidas perante a redução do nutriente fósforo ao solo, perceberam que nessas regiões a quantidade de carbono e fósforo orgânico disponíveis são altas e de fósforo inorgânico é muito baixa.

A quantidade carbono presente no solo oriunda da deposição natural que ocorre na mata e incorporada ao sistema por meio de adição de palhada, como no sistema de plantio direto, foram tidas como fatores que influenciaram

diretamente a atividade enzimática do solo em um estudo que teste a eficiência da fosfatase entre outras enzimas como indicadores de mudanças no solo (SILVEIRA, 2007). A cinza é um componente de entrada de carbono no sistema, este carbono é então utilizado pelos micro-organismos como fonte de energia, alterando assim a velocidade dos processos metabólicos e atividades desempenhada no sistema.

4.1.8 Enzima β-glicosidase

Os resultados da enzima β-glicosidase no período chuvoso não demonstraram diferença entre os tratamentos propostos. No entanto, para as doses de 3 e 9 t ha^{-1} no manejo com incorporação de cinza vegetal, os resultados mantiveram-se próximos ao valor de referência (Figura 43).

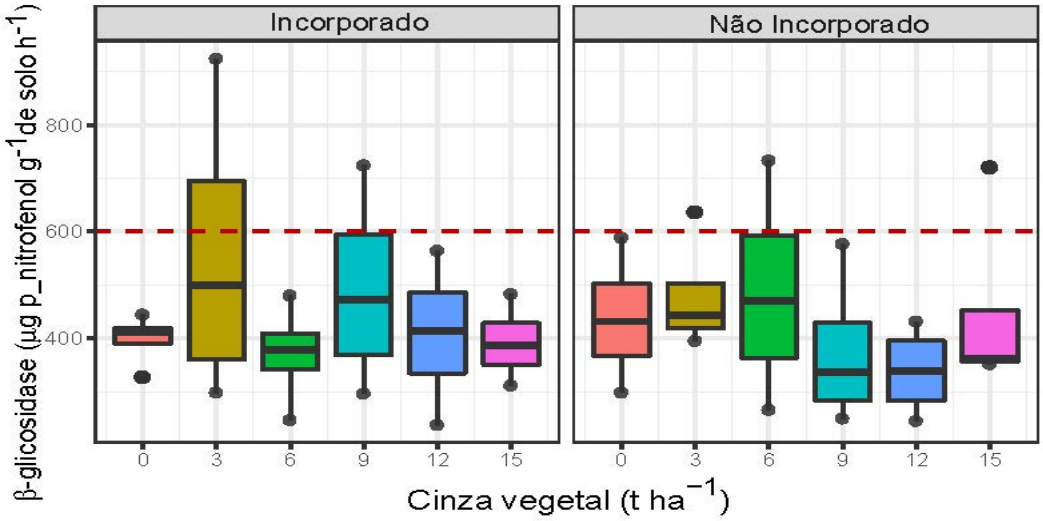

Figura 43. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima β-glicosidase no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (601,58 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local.

A síntese de enzima β-glicosidase no período seco apresentou diferença significativa isolada para as doses de cinza. Houve ajuste ao modelo quadrático

de regressão, com a maior produção de nitrofenol (513,21 µg p-nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) no solo na dose de 8,23 t ha^{-1}, com incremento de 22,06% (Figura 44).

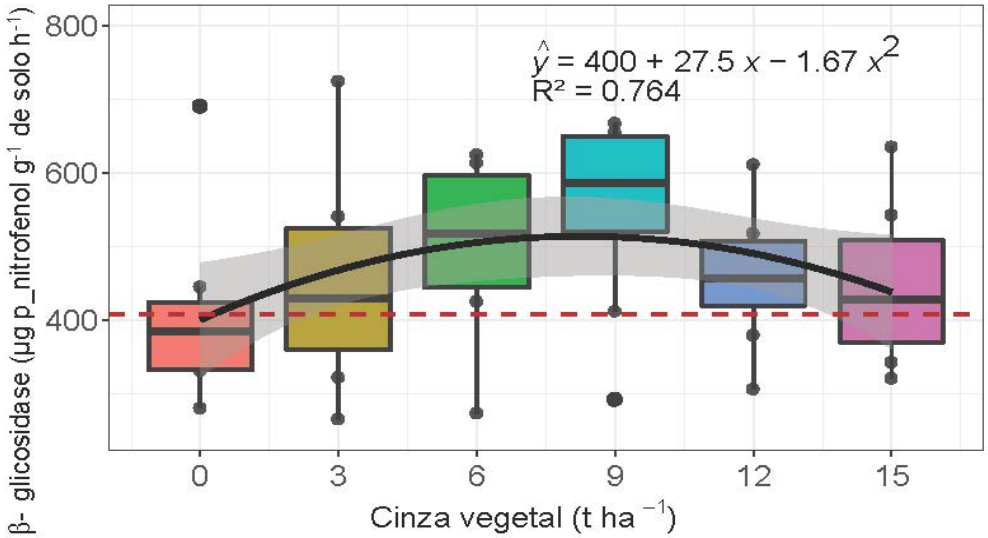

Figura 44. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima β-glicosidase no solo sob área de pastagem em dois manejos de aplicação, incorporado e não incorporado, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (407,38 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}) obtido a partir da mata nativa local.

Evangelista (2012), também analisou em seu trabalho a presença da enzima β-glicosidase, e diferente da enzima fosfatase, a β-glicosidase teve seus maiores níveis em manejo convencional com revolvimento do solo através de gradagem, onde os autores atribuíram esse resultado as adubações orgânicas feitas na área e da decomposição lenta de palha presente no solo.

Calegari (2000) afirma que a manutenção de resíduos distribuídos sob a superfície do solo é uma ótima alternativa para preservar a qualidade do solo. Com isso, os níveis de β-glicosidase foram afetados pelas doses de cinza aplicada ao solo, apresentando resultados superiores a mata nativa, destacando-se as doses 6 a 9 t ha^{-1}no período seco.

Diversos autores atribuem essa resposta a função desempenhada pela enzima β-glicosidase, que está presente no processo final da decomposição da celulose, reduzindo resíduos e formando β-D-glucose (TABATABAI, 1994; PAUL; CLARK, 1996)

Como já relado anteriormente, inúmeros fatores como, cobertura vegetal, manejo aplicado ao solo e épocas de amostragem influenciam os atributos biológicos do solo. Canei, et al. (2018) encontraram uma relação negativa direta entre a atividade da enzima β-glicosidase e o teor de fósforo e carbono presentes no solo. Essa relação é resultado da demanda de fósforo requerida pelos micro-organismo para seu próprio metabolismo, exigindo uma maior quantidade desse nutriente. O carbono, no entanto, é mineralizado facilmente pelos micro-organismos e então liberado para o solo em formas assimiláveis pelas plantas.

Araújo (2018), comparou o efeito de diferentes resíduos sob a qualidade do solo e associou a atuação da enzima b-glicosidase no processo de degradação inicial de inúmeros compostos orgânicos e ao grande aporte de material ao solo, como sendo os motivos do maior resultado no primeiro ano de estudo nos tratamentos ricos em material orgânico e carbono, como cama de frango e de peru, esterco bovino e a mata nativa.

O aporte de carbono no sistema oriunda da adição de cinza vegetal, é um fator importante, que manteve a atividade da β -glicosidase no período seco com os mesmos níveis do encontrado no período chuvoso. Esse efeito não é observado no valor de referência, pois os teores dessa enzima reduziram devido ao período de estiagem.

4.1.9 Enzima Arilsulfatase

Quando analisado a concentração da enzima arilsulfatase presente no solo observou-se diferença isolada para as doses de cinza, ajustando-se ao modelo linear de regressão.

O valor de referência manteve-se superior quanto aos tratamentos aplicados a pastagem de *Brachiaria brizantha,* exceto nas doses 9 e 15 t ha^{-1}, que apresentaram níveis da enzima arilsulfatase semelhantes (Figura 45).

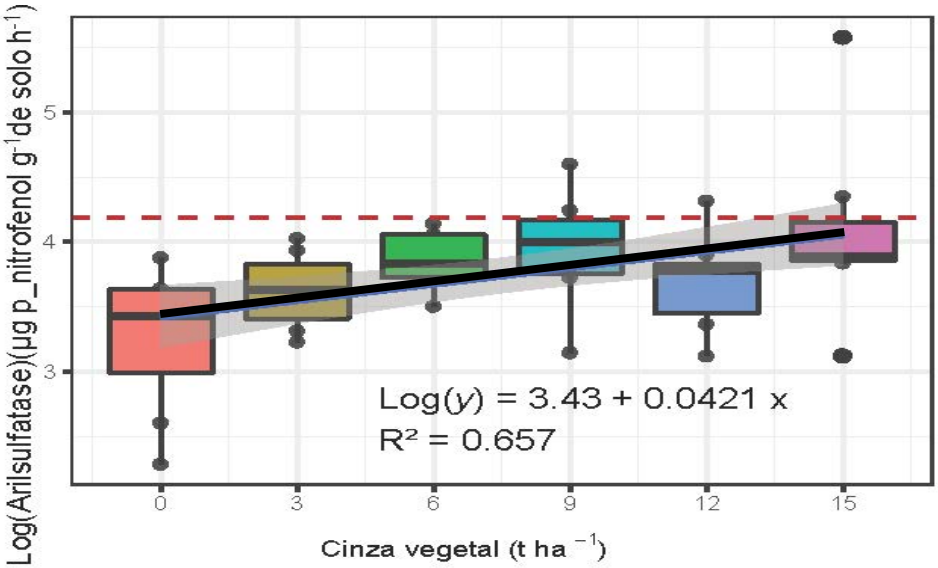

Figura 45. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima arilsulfatase no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação, no período chuvoso. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (66,01), obtido a partir da mata nativa local. Log(y)= arilsulfatase, X= cinza vegetal, * significativo a 1% de probabilidade.

A enzima Arilsulfatase no período seco apresentou diferença significativa isolada para as doses de cinza, com ajuste ao modelo quadrático de regressão, apresentando a maior produção de nitrofenol (54,41µg p-nitrofenol g^{-1} de solo.h^{-1}) no solo na dose de 10,16 t ha^{-1}, com incremento de 43,14%. Somente os tratamentos com aplicação de 0 e 3 t ha^{-1} de cinza mantiveram o valor da enzima arilsulfatase semelhante ao encontrado em mata nativa (Figura 46).

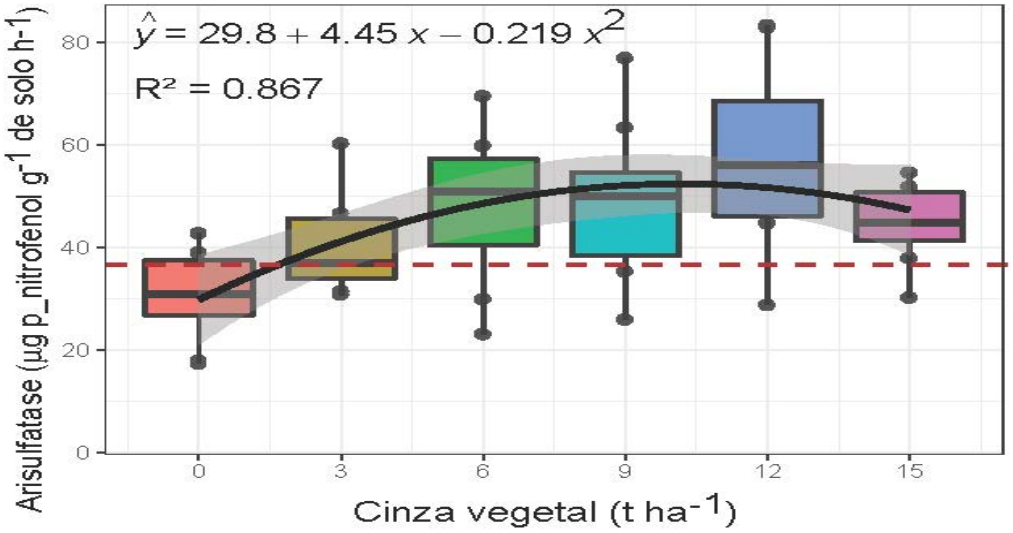

Figura 46. Efeito da aplicação de cinza vegetal sobre a enzima arilsulfatase no solo sob área de pastagem independente do manejo de aplicação, no período seco. Linha pontilhada vermelha representa valor de referência (38,28 µg ρ_nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1}), obtido a partir da mata nativa local. Y= arilsulfatase, X= cinza vegetal, * significativo a 1% de probabilidade.

O período de coleta das amostras influenciou a resposta da atividade da enzima Arilsulfatase. No período chuvoso o aumento nas doses de cinza gerou uma resposta proporcional crescente linear, já no período seco depois de 9 t ha^{-1} houve redução desta enzima no solo. As variações climáticas também influenciaram a atividade metabólica dos micro-organismos e consequentemente a resposta da atividade enzimática do solo em pastos de capim-tanzânia sob diferentes índices de área foliar (SILVA, 2014).

Silva et al. (2012), encontraram maior atividade da arilsulfatase durante o verão, período caracterizado por maior índice pluviométrico. E no período seco, as pastagens que estavam sendo comparadas com área agrícola e de floresta, tiveram maiores índices de arilsulfatase. A média encontrada pelos autores de 69,3 µg PNF g^{-1} TFSE h^{-1}, foi superior aos 66,01 e 38,28 µg PNF g^{-1} TFSE h^{-1}, encontrados neste trabalho no período chuvoso e seco, respectivamente.

Pinto e Nahas (2002), ao estudarem o comportamento de micro-organismos envolvidos no ciclo do enxofre, compararam a atividade da enzima arilsulfatase em solos virgens e cultivados (pastagem, floresta isolada, floresta integrada, eucalipto e milho), e observaram que em locais de floresta a atividade

desta enzima foi maior, assim como os valores de enxofre total e orgânico da mesma região. E explicam que em sistemas de pastagem existe um déficit de nutrientes, caracterizando como áreas de baixa fertilidade, sendo que ao aumentar o carbono orgânico e enxofre orgânico no solo, a atividade enzimática também aumentará.

Ao estudar a diversidade microbiana no Cerrado e fatores que tem influência sobre a comunidade microbiana, Castro et al. (2016) confirmam que o teor e o tipo de matéria orgânica presente no solo têm ligação direta com a época chuvosa e seca, e em decorrência das mudanças climáticas, as atividades dos micro-organismos são alteradas. Os autores correlacionam essa resposta biológica a um estado de dormência de alguns micro-organismos no período de seca.

A atividade da arilsulfatase sofreu redução no período de seca independente do tratamento avaliado, corroborando o estudo realizado por Moreira (2017), que encontrou a maior atividade da enzima arilsulfatase na época chuvosa enquanto estudava os indicadores bioquímicos e microbianos em solos de mata nativa do Cerrado. Mostrando a importância da umidade do solo e como influencia diretamente o ciclo de inúmeros nutrientes, aumentando ou diminuindo sua imobilização ou mineralização.

5. CONCLUSÃ0

A cinza vegetal, aplicada como agente de recuperação sob área de pastagem em processo de degradação, apresentou efeito positivo sobre as características biológicas do solo, aumentando o número de micro-organismos e a produção de enzimas presentes no solo. De maneira geral, os atributos avaliados encontraram-se em níveis similares à mata nativa, seguindo padrões locais de equilíbrio ambiental.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIRRE, P. F., OLIVO, C. J., SIMONETTI, G. D., NUNES, J. S., SILVA, J. O., SANTOS, M. S. & ANJOS, A. N. A. Produtividade de pastagens de Coastcross-1 em consórcio com diferentes leguminosas de ciclo hibernal. **Ciência Rural**, 44, 2265-2272. 2014.

AHMARUZZAMAN, M. A review on the utilization of fly ash. **Progress in Energy and Combustion Science**, 2010, 36, 327.

ALEXANDER, M. Introduction to soil microbiology. 2.ed. New York: **John Wiley & Sons**, 1977. 467p

ALMEIDA, L. S. et al. Indicadores de qualidade do solo em cultivos irrigados de cana-de-açúcar. **Pesq. agropec. bras**., Brasília, v.51, n.9, p.1539-1547, set. 2016 DOI: 10.1590/S0100-204X2016000900053.

ALMEIDA, M. D. C.; TRINDADE, A. V.; MAIA, I. C. S.; MARQUES, M. C. Influências dos diferentes sistemas de manejo no comportamento da microbiota do solo em áreas sob cultivo de mamão na região de Cruz das Almas, BA. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, vol. 8, p. 67–75, 2008.

ANDRADE, R. G.; BOLFE, E. L.; VICTORIA, D. C.; NOGUEIRA, S. F. Recuperação de pastagens no Cerrado. Agroanalysis **file**:///C:/Users/Windows/Desktop/Dissertação/Artigos%20dissertação/Introdução%20e%20Revisão/63501-133878-1-PB.pdf. fev-2018.

ANDRADE, R. S.; STONE, L. F. Índice S como indicador da qualidade física de solos do Cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, n. 2, p. 382-388, 2009a. http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662009000400003.

ANDRADE, R. S.; STONE, L. F. Uso do índice S na determinação da condutividade hidráulica não-saturada de solos do cerrado Brasileiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, n. 4, p. 376-381, 2009b. http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662009000400002.

ANDRADE, R.G.; TEIXEIRA, A.H.C.; LEIVAS, J.F.; SILVA, G.B.S.; NOGUEIRA, S.F.; VICTORIA, D.C.; VICENTE, L.E.; BOLFE, E.L. Indicativo de pastagens plantadas em processo de degradação no bioma Cerrado. **In:** Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 2015, João Pessoa, PB. XVII SBSR - Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. Anais... São José dos Campos: INPE, 2015. Artigos, p.1585-1592. Disponível em: <http://www.dsr.inpe.br/sbsr2015/ files/p0300.pdf>. Acesso em: 9 de fevereiro. 2019.

ANDRIESSE, J. P. Monitoring project of nutrient cycling in soils used for shifting cultivation under various climatic conditions in Asia. Part I, Text. Research Report, **Royal Tropical Institute**, Amsterdam, 141p. 1987.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Biosci. J.,** Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, July./Sept. 2007.

ARAÚJO, E. A.; KER, J. C.; NEVES, J. C. L.; LANI, J. L. Qualidade do solo: conceitos, indicadores e avaliação. **Pesquisa aplicada e agrotecnologia**. V.5, n.1, jan/abr. (2012). (On line) e-ISSN 1984-7548.

ARAÚJO, R. M. Uso de resíduos na agricultura familiar de base ecológica: efeitos na qualidade do solo e desempenho agronômico do feijoeiro / Raul Matos Araújo; Ana Cláudia Rodrigues de Lima, orientadora; Helvio Debli Casalinho, Ademir Sérgio Ferreira de Araújo, coorientadores. —**Tese** (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

ARRUDA, J. A.; AZEVEDO, T. A. O.; FREIRE, J. L. O.; BANDEIRA, L. B.; ESTRELA, J. W. M.; SANTOS, S. J. A. Uso da cinza de biomassa na agricultura: efeitos sobre atributos do solo e resposta das culturas. **Revista Principia**, João Pessoa, n.30, p. 13, 2016.

ARSHAD, M.A.; SCHINITZER, M.; ANGERS, D.A.; RIPMEESTER, J.A. Effects of till vs no-till on the quality of soil organic matter. **Soil Biology & Biochemistry**, v.22, p.595-599, 1990.

AVANZI, J. C.; NORTON, L. D.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; OLIVEIRA, A. H.; SILVA, M. A. Aggregate stability in soils cultivated with eucalyptus**. Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 46, n. 1, p. 89-96, 2011. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2011000100012.

BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. **Biology and Fertility of Soils**, v.30, p.485-491, 2000.

BALOTA, E. L.; NOGUEIRA, M. A.; MENDES, I. C.; HUNGRIA M.; DÁFILA SANTOS LIMA FAGOTTI, D. S. L.; MELO, G. M. P.; RENATA CAROLINI SOUZA, R. C.; MELO, W. J. Enzimas e seu papel na qualidade do solo. **Tópicos Ci. Solo**, 8:221-278, 2013.

BARETTA, D. Fauna do solo e outros atributos edáficos como indicadores da qualidade ambiental em áreas com *Araucaria angustifolia* no Estado de São Paulo. **Tese de Doutorado**. Piracicaba, Universidade de São Paulo. 159 p. 2007.

BEEF WORLD. Disponível em: <http://www. beefworld.com.br/noticia/custos-de-producao-decarne-bovina-no-brasil-e-um-dos-mais-baixos>. Acesso em: 11fev. 2019.

BELLOTE, A. F. J.; SILVA, H. D.; FERREIRA, C. A.; ANDRADE, G. C. Resíduos da indústria de celulose em plantios florestais**. Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 37, p. 99-106, jul./dez. 1998.

BEZERRA, M. D. L. Cinza vegetal como corretivo e fertilizante no cultivo de capim-marandu em solos do cerrado mato-grossense. 2013. 63 f. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Mato Grosso, Rondonópolis, 2013.

BEZERRA, M. D. L.; BONFIM-SILVA, E. M.; SILVA, T. J. A.; SOUSA, H. H. F. DUARTE, T. F.; ESPÍRITO SANTO, E. S.; PACHECO, A. B. Wood ash on the fertilization of marandu grass in Brazilian cerrado soils. **African Journal of Agricultural Research**. DOI: 10.5897/AJAR2015.10729 Article Number: E53BEA258309 ISSN 1991-637X. Vol. 11(17), pp. 1504-1510, 28 April, 2016.

BODDEY, R.M., MACEDO, R., TARRE, R.M., FERREIRA, E., DE OLIVEIRA, O.C., REZENDE, C.D., CANTARUTTI, R.B., PEREIRA, J.M., ALVES, B.J.R., URQUIAGA, S. Nitrogen cycling in Brachiaria pastures: the key to understanding the process of pasture decline. **Agric. Ecosyst. Environ**. 103 (2), 389–403. 2004.

BONFIM-SILVA, E. M.; PEREIRA, M.T.J.; FORTENELLI, J.V.; GONÇALVES, J.M.; SCHLICHTING, A. F.; SILVA, TONNY J. A. DA. Wood Ash in Canavalia ensiformis L. Cultivation on Highly Weathered Soil in Brazil. **International journal of plant & soil science**, v. 16, p. 1-7, 2017a.

BONFIM-SILVA, E. M.; PEREIRA, M. T. J.; DA SILVA, T. J. A.; FENNER, W. Potential of Wood Ash as a Fertilizer in BRS Piatã Grass Cultivation in the Brazilian Cerrado Soil. **American journal of plant sciences**, v. 08, p. 2333-2344, 2017b.

BONFIM-SILVA, E. M.; SILVA, T. J. A.; CABRAL, C. E. A; et al. Características morfológicas e estruturais de capim-marandu adubado com cinza vegetal em Latossolo Vermelho do Cerrado. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Cientifico Conhecer, Goiânia, v.7, n. 2, p.1-9, 2011b.

BONFIM-SILVA, E. M.; CABRAL, C. E. A.; SILVA, T. J. A. da; et al. Cinza vegetal: Características produtivas e teor de clorofila do capim-marandu. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.29, n.5, p.1215-1225, 2013.

BRUNELLI, A. M. M. P.; PISANI JÚNIOR, R. Proposta de disposição de resíduo gerado a partir da queima do bagaço de cana em caldeiras como fonte de nutriente e corretivo do solo. **In:** CONGRESO INTERAMERICANO DE INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENAL, 30., 2006, Punta del Leste. Anais… Montevideo: Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 2006. v. 1, p. 1-9

CACURO, T. A.; WALDMAN, W. R. Cinzas da Queima de Biomassa: Aplicações e Potencialidades. **Revista Virtual de Química**. Vol 7, No. 6, 2154-2165, 2015.

CALEGARI, A. Coberturas verdes em sistemas intensivos de produção. In: workshop nitrogênio na Sustentabilidade de sistemas intensivos De produção agropecuária, 1., 2000, Dourados. **Anais**...Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2000. p. 141-153.

CAMARGO, F. F. Indicadores físicos, químicos e biológicos da qualidade do solo em sistemas agroflorestais agroecológicos na área de preservação ambiental Serra da Mantiqueira, MG / Flora Ferreira Camargo. – Lavras: UFLA, 2016. **Tese(doutorado)**–Universidade Federal de Lavras, 2016.

CAMPOS, L.P.; LEITE, L.F.C.; MACIEL, G.A.; BRASIL, E.L.; IWATA, B. de F. Estoques e frações de carbono orgânico em Latossolo Amarelo submetido a diferentes sistemas de manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, p.304-312, 2013. DOI: 10.1590/S0100-204X2013000300009

CANEI, A. D. et al. Atributos microbiológicos e estrutura de comunidades bacterianas como indicadores da qualidade do solo em plantios florestais na mata atlântica. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 1405-1417, out.-dez., 2018.

CARNEIRO, R. G.; MENDES, I. C.; LOVATO, P. E.; CARVALHO, A.M.; VIVALDI, L. J. Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional**. Pesquisa agropecuária brasileira**, v.39, n.7, p.661-669, 2004.

CASTRO, A. C.; LOURENÇO JÚNIOR, J. B.; SANTOS, N. F. A.; MONTEIRO, E. M. M.; AVIZ, M. A. B.; GARCIA, A. R. Sistema silvipastoril na Amazônia: ferramenta para elevar o desempenho produtivo de búfalos. **Ciência Rural**, 38, 2392-2402. 2008.

CASTRO, A. P. et al. Microbial Diversity in Cerrado Biome (Neotropical Savanna) **Soils. PLOS ONE** 11(2):e0148785.doi:10.1371/journal.pone.0148785, February 5, 2016.

CENCIANI, K.; LAMBAIS, M. R.; CERRI, C. C.; AZEVEDO, L. C. B.; FEIGL, B. J. 2009. Bacteria diversity and microbial biomass in forest, pasture and fallow soils in the southwestern Amazon basin. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33: 907-916.

COSTA, M. A. T.; TORMENA, C. A.; LUGÃO, S. M. B.; FIDALSKI, J.; NASCIMENTO, W. G.; MEDEIROS, F. M. Resistência do solo à penetração e produção de raízes e de forragem em diferentes níveis de intensificação do pastejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.36, p.993-1004, 2012. DOI: 10.1590/S0100-06832012000300029.

COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P. de SEVERINO, E. Da C.; OLIVEIRA, M.A. de. Doses e fontes de nitrogênio na nutrição mineral do capim-Marandu. Ciência Animal Brasileira, v.10, n.1, p.115-123, 2009.

CREA-MT (Conselho Regional de Engenharia e Agronomia de Mato Grosso). A importância dos biomas presentes no Estado de MT (2015). Disponível em: https://www.crea-mt.org.br/portal/a-importancia-dos-biomas-presentes-no-estado-de-mt/. Acesso em: 11/fev/2019.

DE OLIVEIRA, O. C., DE OLIVEIRA, I. P., ALVES, B. J. R., URQUIAGA, S., BODDEY, R. M. Chemical and biological indicators of decline/degradation of Brachiaria pastures in the Brazilian Cerrado**. Agric. Ecosyst. Environ**. 103 (2), 289–300. 2004.

DEXTER, A. R.; BIRD, N. R. A. Methods for predicting the optimum and the range of soil water contents for tillage based on the water retention curve. **Soil & Tillage Research**, v. 57, n. 4, p. 203-212, 2001. http://dx.doi.org/10.1016/S0167-1987(00)00154-9.

DIAS FILHO, M. B. Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação. 3. ed. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2007. 33 p.

DIAS-FILHO, M. B. Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação. 4.ed. **revista atual. e ampl.** Belém: Ed. do Autor, 2011. 216p.

DIAS-FILHO, M. B. Diagnóstico das pastagens no Brasil / Moacyr Bernardino Dias-Filho. – Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2014.

DIAS-FILHO, M. B. Estratégias para recuperação de pastagens degradadas na Amazônia brasileira / Moacyr Bernardino Dias-Filho. – Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental**, 1ª edição On-line (2015) Disponível em: www.embrapa.br/Amazônia-oriental/publicações. 2015.

DIAS-FILHO, M. B. Degradação de pastagens: o que é e como evitar / Moacyr Bernardino Dias Filho. — Brasília, DF: **Embrapa**, 2017.
PDF (19 p.): il. color.

DORAN, J. W.; SAFLEY, M. Defining and assessing soil health and sustainable productivity. p. 1-28. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R.; eds. **Biological Indicators of Soil Health**. CAB International, New York, NY, USA. 1997.

DON, A.; SCHUMACHER, J.; FREIBAUER, A. Impact of tropical land-use change on soil organic carbon stocks–a meta- analysis. **Global Change Biology** 2011; 17(4): 1658-1670. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02336.x.

D'ANDRÉA, A. F. SILVA, M. L. N.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Biological indicator attributes of soil quality under management systems in the cerrado region of the southern Goiás state, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, n. 4, p. 913-923, dez. 2002.

DICK, R. P.; BURNS, R. G. A brief history of soil enzimology research. In: DICK, R. P., ed. Methods of soil enzymology. Madison, **Soil Science Society of America**, 2011. p.1-19. (Book Series, 9).

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1995.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. Sistema brasileiro de classificação de solos. Rio de Janeiro, 2013. 353 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Embrapa mapeia degradação das pastagens do Cerrado. Graziella Galinari (MTb 3863 / PR) **Embrapa Monitoramento por Satélite. 2014.**

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Embrapa Agrobiologia**. Pastagens. 2018.Disponível em: https://www.embrapa.br/agrobiologia/pesquisa-e-desenvolvimento/pastagens Acesso em: 12/jan/2019.

EVANGELISTA, C. R. et al. Atividade enzimática do solo sob sistema de produção orgânica e convencional na cultura da cana-de-açúcar em Goiás. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 1251-1262, jul./ago. 2012.

EVANGELISTA, C. R.; PARTELLI, F. L.; FERREIRA, E. P. B.; PIRES, F. R. Atributos microbiológicos do solo na cultura da cana-de-açúcar sob manejo orgânico e convencional. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 1549-1562, jul./ago. 2013.

FACCI, L. D. Variáveis microbiológicas como indicadoras da qualidade do solo sob diferentes usos. 2008. 104f. **Dissertação** (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical)-Instituto Agronômico, Universidade de Campinas, Campinas.

FRANZLUEBBERS, A. J.; HONS, F. M.; ZUBERER, D. A. Long-term changes in soil carbon and nitrogen pools in wheat management systems. **Soil Science Society of America Journal**, v.58, p. 1639-1645, 1994.

FERREIRA, E. P. B.; STONE, L. F.; MARTIN-DIDONET, C. C. G. População e atividade microbiana do solo em sistema agroecológico de produção. **Revista Ciência Agronômica,** v. 48, n. 1, p. 22-31, jan-mar, 2017 Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE www.ccarevista.ufc.br ISSN 1806-6690 Artigo Científico.

GAMA-RODRIGUES, E. F.; BARROS, N. F.; GAMA-RODRIGUES, A. C.; SANTOS, G. A. 2005. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto**. Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 29: 893-901.

GIRARDI, E. P. « Mato Grosso: expressão aguda da questão agrária brasileira », **Confins [Online],** 27 | 2016, postado em 28 de julho de 2016, acessado em 10 de fevereiro de 2019 URL : http://journals.openedition.org/confins/10898 ; DOI : 10.4000/confins.10898.

GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J.; RHEINHEIMER, D. S.; BRUNETTO, G. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatases ácidas durante a diminuição do fósforo disponível no solo**. Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 8, p. 1085-1091, 2008.

GUARIZ, H. R.; PICOLI, M. H. S.; CAMPANHARO, W. A.; RODRIGUES, B. P. Uso de cinzas de fornos de cerâmica como fonte de nutrientes para aproveitamento na agricultura. **In:** Congresso Brasileiro de Resíduos Orgânicos. Vitoria – ES, 2009.

GOMES, F. P. Adubos e adubações. São Paulo: **Edição Melhoramentos**, 1968. 188p.

GOMES, M. A. F.; FILIZOLA, H. F. Indicadores físicos e químicos de qualidade de solo de interesse agrícola. 1.ed. Jaguariúna**: Embrapa Meio Ambiente**. 2006. 8p.

INSTITUTO ANTONIO ERNESTO DE SALVO – I**NAES**. Estado da Arte das pastagens em Minas Gerais. Belo Horizonte, 207 p. 2015.

JAHNEL, M. C.; CARDOSO, E. J. B. N.; DIAS, C. T. S. Determinação do número mais provável de micro-organismos do solo pelo método de plaqueamento por gotas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 23, n. 3, p. 553-559, 1999.

JALA, S.; GOYAL, D.; Fly ash as a soil ameliorant for improving crop production– a review. **Bioresource Technology**, 97, 1136. 2006.

JÄGER, N.; STANGE, C. F.; LUDWIG, B. E FLESSA, H. Emission rates of N2O and CO2 from soils with different organic matter content from three long-term fertilization experiments—a laboratory study**. Biology and Fertility of Soils**, New York, n. 1, p. 483–494, 2011. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-011-0553-5>.

KARLEN, D. L.; MAUSBACH, M. J.; DORAN, J. W.; CLINE, R. G.; HARRIS, R. F.; SCHUMAN, G. E. Soil quality: a concept, de□hition and framework for evaluation. **Soil Science Society America Journal**, v.61, n.1, p.4-10, 1997.
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 and Biochemistry**, v. 20, p. 1-13, 2010.

KEENEY, D. R.; NELSON, D. W. Nitrogen inorganic forms. In: PAGE, A.L. (Ed.). Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties. 2.ed.

Madison**: American Society of Agronomy/Soil Science Society of America**, p.643-698. 1982.

KICHEL, A. N.; COSTA, J. A. A.; ALMEIDA, R. G. Vantagens da recuperação e renovação de pastagens degradadas com a utilização de sistemas integrados de produção agropecuária. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, p. 48-50, 2012.

KLOSE, S.; TABATABAI, M. A. Arylsulfatase activity of the microbial biomass in soil. **Soil Sci. Soc. Am**. J., 53:569-574, 1999.

LAVELLE, P.; DECAËNS, T.; AUBERT, M.; BAROT, S.; BLOUIN, M.; BUREAU, F.; MARGERIE, P.; MORA, P.; ROSSI, J.P. Soil invertebrates and ecosystem services. **European Journal of Soil Biology**, v.42, p.3-15, 2006.

LEITE, L.F.C.; ARRUDA, F.P. de; COSTA, C. do N.; FERREIRA, J. da S.; HOLANDA NETO, M.R. Qualidade química do solo e dinâmica de carbono sob monocultivo e consórcio de macaúba e pastagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, p.1257-1263, 2013. DOI: 10.1590/S141543662013001200002.

LIMA, R. de L. S. de; SILVA, M. I. de L.; JERÔNIMO, J. F., et al. Uso fertilizante de cinza vegetal e lodo de esgoto para a produção do algodoeiro cv. Rubi. Parte 2. Variáveis de produção. **In:** CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 5, 2005, Salvador. Anais... Salvador: EMBRAPA, CNPA, 2005.

LIMA, S. A.; SALES, A.; MORETTI, J. P.; ALMEIDA, F. C. R.; SANTOS, T. J.; RESUMOS do **VI Congresso Internacional Sobre Patologia e Reabilitação de Estruturas**, Córdoba, Argentina, 2010.

MACEDO, C. M.M. Degradação de pastagens: conceitos e métodos de recuperação. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA DE LEITE NO BRASIL, Goiânia, 1999. **Anais**… Goiânia: EMBRAPA-CNPGL, p.137-150. 1999.

MACEDO, M. C. M. Degradação de pastagens: conceitos, alternativas e métodos de recuperação. **Informe Agropecuário**, 26, 36-42. 2005.

MACEDO, M. C. M. Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38, 133-146. 2009.

MACEDO, M.C.M.; et al. Degradação de Pastagens, Alternativas de Recuperação e Renovação, e Formas de Mitigação**. In:** Encontro de Adubação de Pastagens da Scot Consultoria - TEC - Fértil, 1., 2013, Ribeirão Preto, SP. Anais... Bebedouro: Scot Consultoria, p. 158-181. 2013.

MACHADO, D. M.; SCHOSSLER, T. R.; ZUFFO, A. M.; ANDRADE, F. R DE.; PIAUILINO, A, C. Atividades microbianas e as transformações no ciclo dos elementos no solo. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, 8, n.15, 180, 2012.

MADARI, B.; MACHADO, P.L.O.A.; TORRES, E.; ANDRADE, A.G.; VALENCIA, L.I.O. No tillage and crop rotation effects on soil aggregation and organic carbon in a Rhodic Ferralsol from Southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v.80, p.185-200, 2005. DOI: 10.1016/j.still.2004.03.006.

MARTINS, S. V. Recuperação de áreas degradadas: b ações em áreas de preservação permanente, voçorocas, taludes rodoviários e de mineração. Viçosa, MG: **Aprenda Fácil**, 2009.270p.

MARTINS, K. F. Determinação da população de fungos e bactérias do solo contaminado com petróleo e armazenado sob refrigeração e congelamento. **Dissertação** (Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Ciência do Solo, Departamento de Solos do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná) – Curitiba-PR. 2002.

MARTINS, C. A. S., PANDOLFI, F., PASSOS, R. R., REIS, E.F., CABRAL, M. B. G. V. 2010. Avaliação da compactação de um latossolo vermelho-amarelo sob diferentes coberturas vegetais. **Bioscience Journal** 26: 179-83.

MELLO, F. F. C., CERRI, C. E. P., DAVIES, C. A., HOLBROOK, N.M., PAUSTIAN, K., MAIA, S.M.F., GALDOS, M.V., BERNOUX, M., CERRI, C.C. Payback time for soil carbon and sugar-cane ethanol. **Nat. Clim. Change 4,** 605e609. 2014.

MERCANTE, F. M. Os microrganismos do solo e a dinâmica da matéria orgânica em sistemas de produção de grãos e pastagem / Fábio Martins Mercante. 14p.: il.; 21cm. (**Embrapa Agropecuária Oeste. Coleção Sistema Plantio Direto**, 5). ¾ Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001.

MERCANTE, F. M.; FABRICIO, A. C.; MACHADO, L. A. Z.; SILVA, W. M. Parâmetros microbiológicos como indicadores da qualidade do solo sob sistemas integrados de produção agropecuária. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** n.20. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004.

MILINDRO, I. F.; RODRIGUES, R. A. A.; SANTOS, M. K. A.; SANTOS, V. B**.** Atributos químicos como indicadores de qualidade do solo sob manejo agroecológico. **Cadernos de Agroecologia**, [S.l.], v. 10, n. 3, may 2016. ISSN 2236-7934. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/cad/article/view/18983>. Acesso em: 01 sep. 2018.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Instrução Normativa nº 5, de 8 de setembro de 2009.Disponível em: <http://www.redejucara.org.br/legislacao/in_5_2009_MMA.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2019.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed. atual. e ampl. Lavras: Ed. da UFLA, 2006. 729p.

MOREIRA, W. H.; TORMENA, C. A.; BETIOLI JUNIOR, E.; PETEAN, L. P.; ALVES, S. J. Influência da altura de pastejo de azevém e aveia, em atributos físicos de um latossolo vermelho distroférrico, após sete anos sob integração lavoura-pecuária. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 4, p. 1315-1326, 2014. http://dx.doi. org/10.1590/S0100-06832014000400027.

MOREIRA, C. P. Indicadores microbianos e bioquímicos do solo em sítios de vereda, mata seca semidecídua e cerrado sensu stricto. **Dissertação** (Mestrado em Qualidade Ambiental) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia -MG. 2017. 43p.

NARANJO, J. F.; CUARTAS, C. A.; MURGUEITIO, E.; CHARÁ, J.; BARAHONA, R. Balance de gases de efecto invernadero en sistemas silvopastoriles intensivos con Leucaena leucocephala en Colombia. **Livestock Research for Rural Development**, 24, 15. 2012.

NESPER, M., BÜNEMANN, E. K., FONTE, S. J., RAO, I.M., VELÁSQUEZ, J. E., RAMIREZ, B., HEGGLIN, D., FROSSARD, E., OBERSON, A. Pasture degradation decreases organic P content of tropical soils due to soil structural decline. **Geoderma** 257, 123–133. 2015.

NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Indicadores microbiológicos da qualidade do solo. **In**: REUNIÃO PARANAENSE DE CIÊNCIA DO SOLO, 3., Londrina. Sistemas conservacionistas de produção e sua interação com a Ciência do Solo: resumos. Londrina: IAPAR, 2013. p. 539-544.

NUNES, L. A. P. L.; LIMA, L. M.; CARNEIRO, R. F. V.; TSAI, S. M.; SALVIANO, A. A. C. Land degradation on soil microbial biomass and activity in Northeast Brazil. **Pedosphere**, v. 22, p. 88 – 95, 2012.

OBERNBERGER, I.; BRUNNER, T.; BÄRNTHALER, G. Chemical properties of solid biofuels –significance and impact. **Biomass and Bioenergy**, 2006.

PANDEY, V. C.; SINGH, N. Impact of fly ash incorporation in soil systems. **Agriculture Ecosystem Environment**, 2010, 136, 16.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. Soil microbiology and biochemistry. San Diego, **Academic Press**, 1996. 340 p.

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. **Pesq. agropec. bras**., Brasília, v.40, n.2, p.137-144, fev. 2005.

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

PITA, P. V. V. Valorização agrícola de cinza da co-combustão de bagaço de cana-de-açúcar e biomassa lenhosa. 2009. 120 p. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 2009.

PRADO, R. M.; CORRÊA, M. C. M.; NATALE, W. Efeito da cinza da indústria de cerâmica no solo e na nutrição de mudas de goiabeira. **Acta Scientiarum**, v.24, p.1493-1500, 2002.

PRAGANA, R. B.; NOBREGA, R. S. A.; RIBEIRO, M. R.; LUSTOSA FILHO, J. F. Atributos biológicos e dinâmica da matéria orgânica em latossolos amarelos na região do cerrado piauiense sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 851-858, 2012.

PUPIN, B. Propriedades microbiológicas do solo alteradas por compactação. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal. 2008.

RAMOS, M. J. M.; VITAL, A. R. Levantamento de sistema de produção, problemas e demandas da agropecuária do estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, Viçosa, v. 6, n. 1, p.59-63, 2016.

REARDON, C. L.; GOLLANY, H. T.; WUEST, S. B. Diazotrophic Community structure abundance in wheat fallow and wheat-pea crop rotations. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 69, p. 406-412, 2014.

REGO NETO, L. G. Comparação de métodos alternativos e quantificação de bactérias no processo de calagem de solo. 2017. **Dissertação** (Mestrado em Ambiente, tecnologia e sociedade) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. *R: A language and environment for statistical computing.* **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R-project.org/>. (2018).

RIBEIRO, R. C.; ROSSIELLO, R. P.; MACEDO, R. O.; BARBIERI JÚNIOR, E. B. Introdução de desmódio em pastagem estabelecida de Brachiaria humidicola: densidade e freqüência da leguminosa no consórcio. **Revista da Universidade Rural**, 27, 41-49. 2007.

R. PIVA et al. Adubação em vinhedo orgânico da cv. Isabel utilizando cinzas vegetais e esterco bovino. **Revista Brasileira de Fruticultura**., Jaboticabal - SP, v. 35, n. 2, p. 608 - 615, Junho 2013.

RUIZ, N.; LAVELLE, P.; JIMENEZ, J. **Soil macrofauna field manual:** technical level. Rome: FAO, 2008. 100 p.

SAMPAIO, K. (2016) Brasil atinge recorde de 215,2 milhões de cabeças de gado. Disponível em: <https://pastagem.org/index.php/pt-br/noticiaspastagem/860-brasil-atinge-recorde-de-215-2milhoes-de-cabecas-de-gado>. Acessado em 10 fev. 2019.

SANTOS, C. C. dos. **Cinza vegetal como corretivo e fertilizante para os capins Marandu e Xaraés**. 2012. 127f. Dissertação (Mestrado em Engenharia

Agrícola) – Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Federal de Mato Grosso, Rondonópolis, 2012.

SANTOS, I. M. **Bioindicadores de qualidade de solo: micro-organismos em um estudo de caso**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SANTOS, V. M.; MAIA, L. C. Bioindicadores de qualidade do solo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, vol. 10, p.195-223, 2013.

SARKAR, A.; RANO, R. Water holding capacities of fly ashes: effect of size fractionation. **Energy Sources Part A**: Recovery Utilization and Environmental Effects 2007, 29, 471.

SARKAR, D. - Lattice: *Multivariate Data visualization with R*. Springer, New York. ISBN 978-0-387-75968-5, <http://lmdvr.r-forge.r-project.org>.(2008).

SILVA, E. E. da; AZEVEDO, P. H. S. de; DE-POLLI, H. **Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO2)**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado técnico, 99).

SILVA, V. C. Atividade enzimática no solo e dinâmica de carbono e nitrogênio em pastos de capim-tanzânia sob índices de área foliar residual. / Victor Costa e Silva. – – Jaboticabal, 2014. iv, 90 p.; 28 cm **Tese** (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. de S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. Micro-organismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental. Brasília: **EMRAPA-SPI**, 1994. p.7-81.

SILVA, P. C. M.; CHAVES, L. H. G. Avaliação e variabilidade espacial de fósforo, potássio e matéria orgânica em Alissolos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 5, n. 03, p. 431-436, 2001.

SILVA, A. P.; TORMENA, C. A.; FIDALSKI, J.; IMHOFF, S. Funções de pedotransferência para as curvas de retenção de água e de resistência do solo à penetração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 1, p. 1-10, 2008. http://dx.doi.org/10.1590/S0100- 06832008000100001.

SILVA, C. F.; PEREIRA, M. G.; MIGUEL, D. L. et al. 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**, v.36, p.1680-1689, 2012.

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

SILVEIRA, L. P. SOUTO, J. S. DAMASCENO, M. M. MUCIDA, D. P. PEREIRA, I. M. Poleiros artificiais e enleiramento de galhada na restauração de área degradada no semiárido da Paraíba, Brasil. **Nativa**, Sinop, v. 03, n. 03, p. 164-170, jul./set. 2015.

SKUJINS, J. Enzymes in soil. In: McLAREN, A.D. & PETERSON, G.H., eds. **Soil biochemistry**. New York, Marcel Dekker, 1967. p.371-414.

SOARES FILHO, C. V. Características morfogênicas, perdas de nitrogênio por volatilização, reservas orgânicas e sistema radicular do capim-Tanzânia fertilizado com doses de nitrogênio. 2009. **Tese** (Livre-Docência em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba.

SOARES FILHO, C. V.; MONTEIRO, F. A.; CORSI, M. Recuperação de pastagens degradadas de Brachiaria decumbens. 1. Efeito de diferentes tratamentos de fertilização e manejo. **Pasturas Tropicales**, 14, 1-6. 1992.

SOUZA, G. N.; FORMAGINI, S.; CUSTÓDIO, F. O.; SILVEIRA, M. M.; **Resumos** do 49º Congresso Brasileiro Do Concreto, São Paulo, Brasil, 2007.

SOUZA, D. G. Bactérias diazotróficas em solos reconstruídos após a mineração de carvão, na bacia carbonífera catarinense. **Dissertação** apresentada ao Curso de Mestrado em Manejo do Solo, Lages - SC. 2011.

SOUZA, R. A.; MONÇÃO, O. P.; SOUZA, H. B.; OLIVEIRA, J. S.; REIS, T. C. Efeito da cinza de caldeira sobre as características químicas de um solo do Cerrado baiano e produtividade da alface. **Cultivando o Saber**, v. 6, n. 4, p. 60-73, 2013.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Use of P-Nitrophenyl Phosphate for Assay of Soil Phosphatase Activity. **Soil Biology Biochemistry**, 1, 301-307. http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(69)90012-1.1969.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties. Madison: **Soil Science Society of America**, 1994. p. 775-833.

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

TORTORA, G. J. Microbiologia [recurso eletrônico] / Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case; tradução: Aristóbolo Mendes da Silva ... [et al.] ; **revisão técnica: Flávio Guimarães da Fonseca**. – 10. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre: Artmed, 2012.

TORRES, L. C.; BARROS, K. R. M.; LIMA, H. V. Alterações na qualidade física de um latossolo amarelo sob pastagem. **Acta Amazônica**, v. 44, n. 4, p. 419-426, 2014. http://dx.doi.org/10.1590/ S0044-59672014000400003.

VAN GENUCHTEN, M. T. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, n. 5, p. 892-898, 1980. http://dx.doi.org/10.2136/sssaj1980.03615995004400050002x.

VOUNDINKANA, J. C.; DEMEYER, A.; VERLOO, M. G. Availability of nutrients in wood ash amended tropical acid soils. **Environmental Technology**, London, v.19, p.1213-1221, 1998.

WICKHAM, H. - ggplot2: *Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. (2009).

WICKHAM, H. - tidyverse: *Easily Install and Load the 'Tidyverse'*. <https://CRAN.R-project.org/package=tidyverse>.(2017).

WOLLUM II, A. G. Soil sampling for microbiological analysis. In: WEAVER, R.W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. (Ed.). Methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties. Madison: **Soil Science Society of America**, 1994. p.1-14.

ZIMMER, A. H.; MACEDO, M. C. M.; KICHEL, A. N.; ALMEIDA, R. G. de. Degradação, recuperação e renovação de pastagens. **Embrapa Gado de Corte,** 2012.