

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOLOGIA GERAL/BIOPROSPECÇÃO

**Biomassa microbiana do solo em cultivos de pinhão-manso
consorciado com espécies vegetais e métodos comparativos de análise
do carbono microbiano**

ALESSANDRA OLIVEIRA DA SILVA

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOLOGIA GERAL/BIOPROSPECÇÃO

**Biomassa microbiana do solo em cultivos de pinhão-manso
consorciado com espécies vegetais e métodos comparativos de análise
do carbono microbiano**

Acadêmica: Alessandra Oliveira da Silva
Orientador: Fábio Martins Mercante

Dissertação apresentada à
Universidade Federal da Grande
Dourados, como parte das
exigências para obtenção do título
de Mestre em Biologia Geral/
Bioprospecção.

Área de Concentração:
Bioprospecção

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2014

EPÍGRAFE

“A experiência dos erros é tão importante quanto a experiência dos acertos, porque visto de um jeito certo, os erros, eles nos preparam para nossas vitórias e conquistas futuras, pois não há aprendizado na vida que não passe pela experiência dos erros.”

Padre Fábio de Melo

DEDICATÓRIA

A

Deus,

Aos meus queridos pais

Neide Oliveira Costa e José Alexandre da Silva,

Às minhas irmãs

*Karem Eli Oliveira da Silva e Grazielli
Oliveira da Silva*

Ao meu namorado

Ricardo Marques Rodrigues

Por todo incentivo, apoio, amor e confiança.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida.

Em especial, ao meu orientador professor doutor Fábio Martins Mercante, por toda a sua generosidade, amizade, conselhos, apoio, oportunidade, paciência e, principalmente, pela dedicação na orientação durante esses anos.

À Universidade Federal da Grande Dourados, pela oportunidade da realização deste trabalho e de aperfeiçoamento do meu estudo e conhecimento.

À Embrapa Agropecuária Oeste, por disponibilizar todo o apoio necessário para a condução dos experimentos, e em especial ao Mestre William Marra Silva, pela amizade e confiança.

À equipe do Laboratório de Microbiologia do Solo, pelo auxílio na realização das análises e, em especial, ao Vladimir Andrei Tarasiuk, assistente do laboratório, pela amizade, dedicação e apoio durante o desenvolvimento das análises.

Ao doutor Cesar José da Silva, pela colaboração no desenvolvimento desde trabalho.

Aos meus colegas e professores que contribuíram para a minha formação profissional e pessoal. Cito aqui a minha grande amiga Josiléia Acordi Zanatta, que me incentivou na busca da pós-graduação e principalmente acreditou em mim.

Aos meus pais, Neide Oliveira Costa e José Alexandra da Silva, por serem exemplos e minha motivação, não poupando esforços para que eu pudesse chegar até aqui.

Ao meu namorado, Ricardo Marques Rodrigues, pela paciência, apoio e carinho durante todos os momentos.

A todos aqueles que, de uma maneira ou outra, prestaram a mim apoio e incentivo para a realização desse trabalho.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	ix
CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA.....	9
1. A cultura de pinhão-manso no Brasil	9
1.1 Sistemas de manejo da cultura do pinhão-manso (<i>Jatropha curcas L.</i>).....	11
1.2 Potencial do pinhão-manso para o setor agroenergético	12
1.3 O aspecto fitossanitário do pinhão-manso para o setor agroenergético	13
1.4 Indicadores de qualidade do solo	14
1.5 Atributos microbiológicos de qualidade do solo	16
1.6 Métodos de análise do carbono da biomassa microbiana do solo	18
1.6.1 Titulometria	20
1.6.2 Espectrofotometria.....	21
2. Objetivos gerais	23
Referências	24
CAPÍTULO 2 - BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO EM CULTIVOS DE PINHÃO-MANSO CONSORCIADO COM DIFERENTES ESPÉCIES VEGETAIS .	30
Introdução.....	31
1. Material e Métodos.....	33
2. Resultados e Discussão.....	36
Considerações finais	43
Referências	44
CAPÍTULO 3 – MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA A QUANTIFICAÇÃO DO CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO ..	49
Introdução.....	50
2 Material e Métodos.....	52

2.1 Caracterizações da área experimental e sistemas de manejo.....	52
2.1.1 Ensaio 1 - Amostras de solo obtidas em sistema de manejo convencional e sistema plantio direto:.....	52
2.1.2 Ensaio 2 - Amostras de solo obtidas em duas fitofisionomias (Cerrado e Floresta Semidecídua) da região Sul de Mato Grosso do Sul	53
2.2 Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo.....	55
3. Resultados e Discussão.....	56
Considerações finais	62
Referências	63

RESUMO

SILVA, Alessandra Oliveira da. **Biomassa microbiana do solo em cultivos de pinhão-manso consorciado com espécies vegetais e métodos comparativos de análise do carbono microbiano**. 2014. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2014.

A grande expansão da cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas L.*) no território brasileiro tem sido impulsionada pelo seu grande potencial na produção de grãos e óleos, apontada também como uma planta capaz de se desenvolver e produzir em solos marginais apresentando um bom desenvolvimento na reabilitação de áreas degradadas. O presente trabalho está focado no estudo da biomassa microbiana do solo e seus índices derivados, como os quocientes metabólicos e microbianos, em cultivos de pinhão-manso e a quantificação do carbono da biomassa microbiana do solo, estabelecendo uma comparação entre os métodos de titulometria e espectrofotometria. Foi realizado o monitoramento em duas áreas experimentais estabelecidas em regiões distintas do Estado de Mato Gross do Sul, com diferentes sistemas de uso do solo. A primeira área estudada foi no Distrito de Itahum, no Município de Dourados-MS, onde foi avaliado o cultivo de pinhão-manso consorciado com diversas espécies forrageiras, adubos verdes e três sistemas de rotação de culturas anuais. A segunda área estudada foi utilizando amostras de solo obtidas em duas fitofisnomias distintas da região Sul de Mato Grosso do Sul (Cerrado e Floresta Semidecídua) onde foi estabelecida uma comparação entre os métodos de titulometria e espectrofotometria, sendo realizada em dois ensaios: (i) utilizando amostras de solo obtidas em sistema de manejo convencional e sistema plantio direto; e (ii) utilizando amostras de solo obtidas. No primeiro estudo, a biomassa microbiana do solo demonstrou ser sensível aos diferentes uso do solo avaliados. As espécies consórcio do pinhão-manso, estilosantes-campo-grande, braquiária ruzizensis (*Urochloa ruzizensis*) e os sistemas de rotação com milho safrinha – crambe – soja – amendoim e com feijão-caupi – nabo – milho – feijão-caupi estimulou a manutenção da comunidade de microrganismos do solo. A quantificação da biomassa microbiana do solo presente no segundo estudo apresentou o método de espectrofotometria como uma alternativa ao método da titulometria, possibilitando, assim, a eliminação e a utilização do dicromato de potássio nos procedimentos analíticos.

Palavras-chave: *Jatropha curcas L.*, atributos microbiológicos, dicromato de potássio.

ABSTRACT

SILVA, Alessandra Oliveira da. **Soil microbial biomass in crops of *Jatropha* intercropping with plant species and methods of comparative analysis of microbial carbon.** 2014. Dissertation (Master of Science) Federal University of Grande Dourados, Dourados, 2014.

A grande expansão da cultura do pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) no território brasileiro tem sido impulsionada pelo seu grande potencial na produção de grãos e óleos, apontada também como uma planta capaz de se desenvolver e produzir em solos marginais apresentando um bom desenvolvimento na reabilitação de áreas degradadas. O presente trabalho está focado no estudo da biomassa microbiana do solo e seus índices derivados, como os quocientes metabólicos e microbianos, em cultivos de pinhão-mansão e a quantificação do carbono da biomassa microbiana do solo, estabelecendo uma comparação entre os métodos de titulometria e espectrofotometria. Foi realizado o monitoramento em duas áreas experimentais estabelecidas em regiões distintas do Estado de Mato Gross do Sul, com diferentes sistemas de uso do solo. A primeira área estudada foi no Distrito de Itahum, no Município de Dourados-MS, onde foi avaliado o cultivo de pinhão-mansão consorciado com diversas espécies forrageiras, adubos verdes e três sistemas de rotação de culturas anuais. A segunda área estudada foi utilizando amostras de solo obtidas em duas fitofisionomias distintas da região Sul de Mato Grosso do Sul (Cerrado e Floresta Semidecídua) onde foi estabelecida uma comparação entre os métodos de titulometria e espectrofotometria, sendo realizada em dois ensaios: (i) utilizando amostras de solo obtidas em sistema de manejo convencional e sistema plantio direto; e (ii) utilizando amostras de solo obtidas. No primeiro estudo, a biomassa microbiana do solo demonstrou ser sensível aos diferentes uso do solo avaliados. As espécies consórcio do pinhão-mansão, estilosantes-campo-grande, braquiária ruziziensis (*Urochloa ruziziensis*) e os sistemas de rotação com milho safrinha – crambe – soja – amendoim e com feijão-caupi – nabo – milho – feijão-caupi estimulou a manutenção da comunidade de microrganismos do solo. A quantificação da biomassa microbiana do solo presente no segundo estudo apresentou o método de espectrofotometria como uma alternativa ao método da titulometria, possibilitando assim a eliminação e a utilização do dicromato de potássio nos procedimentos analíticos.

Key words: *Jatrophs curcas* L, microbiological attributes, potassium dichromate.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

1. A cultura de pinhão-manso no Brasil

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), também conhecido como pinhão-do-Paraguai, purgueira, pinha-de-purga, grão-de-maluco, pinhão-de-cerca, turba, tartago, medicinaira, tapete, siclité, pinhão-do-inferno, pinhão-bravo, pião, pinhão-das-barbadas, entre outros nomes populares, pertence à família das Euforbiáceas, a mesma da mamona (*Ricinus* sp.) e da mandioca (*Manihot* sp.). É um arbusto grande e de crescimento rápido. Sua altura normal é de dois a três metros, podendo alcançar até cinco metros em condições especiais. Seu diâmetro do tronco é de aproximadamente 20 cm, com folhas verdes, esparsas e brilhantes, largas e alternas em forma de palma. Possui raízes curtas e pouco ramificadas, caule liso e cilindro, um floema com longos canais que se estende até as raízes, onde circula o látex, a floração é monoica na mesma planta, mas com sexo separado (ARRUDA et al., 2004). O fruto é seco deiscente, com três sementes e endocarpo lenhoso, liso, com ápice e base agudos. A semente é endospermica e apresenta uma forma ovalada, um dorso convexo, envoltório liso, coloração preta, e medindo em média de 1,62 a 1,80 cm de comprimento que representa entre 53 a 79% do peso do fruto (NUNES et al., 2009).

Segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (2010), atualmente, o Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo, com uma produção anual, em 2008, de 2,4 bilhões de litros. Hoje dezenas de espécies vegetais presentes no Brasil podem ser usadas na produção de biodiesel (Figura 1), entre elas a soja, dendê, girassol, babaçu, amendoim, mamona e, mais recentemente, a cultura do pinhão-manso, por apresentar um alto potencial para atender ao programa nacional de produção de biodiesel e por ser uma espécie que apresenta um grande rendimento de óleo, produzindo, no mínimo, duas toneladas de óleo por hectares/ano (LAVIOLA et al., 2011).

Julho / 2013

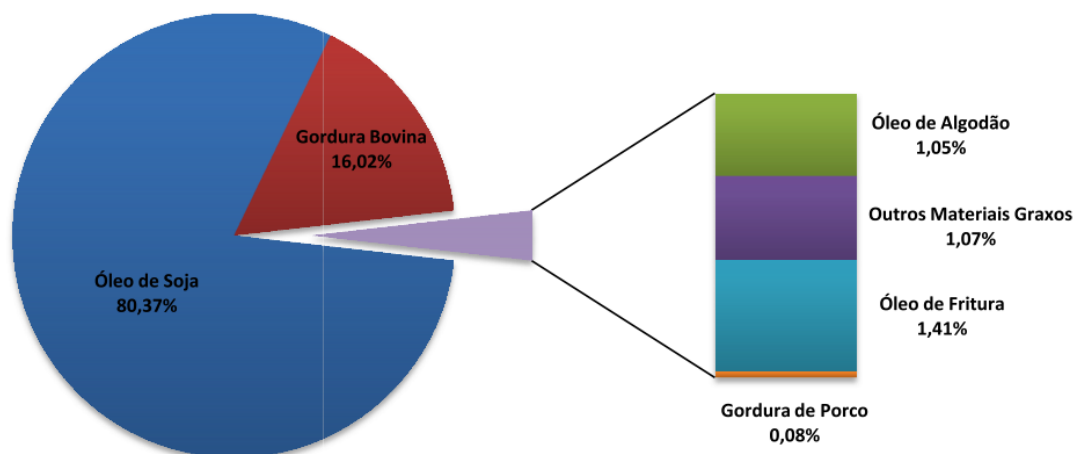


Figura 1. Matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel, julho de 2013 (ANP, 2013).

Segundo Andréo-Souza et al. (2010), o plantio comercial do pinhão-manso no Brasil ainda está na fase inicial de implantação e domesticação da espécie e espera-se que a cultura deixe de ser um potencial e passe a ser efetivamente uma matéria-prima para o mercado de biodiesel.

Considerado uma grande opção agrícola, o pinhão-manso é indicado para as áreas áridas, semiáridas e na recuperação de áreas degradadas, apresentando uma distribuição geográfica bastante ampla. Devido a essa grande distribuição, essa espécie se multiplica em ambientes variados, obtendo maior êxito em solos profundos, bem estruturados e pouco compactados (DRUMOND et al., 2007). O pinhão-manso, quando plantado no início da estação chuvosa, inicia a produção de frutos já em seu primeiro ano de cultivo, embora atinja o seu clímax produtivo a partir do quarto ano, com a capacidade produtiva potencial por mais de 40 anos (LAVIOLA e DIAS, 2008). O pinhão-manso tem sido utilizado em cultivos tanto para a proteção do solo contra erosão como para estabelecimento de cercas vivas; suas folhas, seu látex, sua casca e seu óleo são bem conhecidos na medicina tradicional (SPINELLI et al., 2010).

Todas as partes do pinhão-manso têm potencial econômico: na medicina tradicional, inseticida, cerca viva de pastagens e campos agrícolas. Além disso, sua torta é rica em nitrogênio, sendo utilizada como adubo orgânico e ração animal (SATO et al.,

2009). Segundo Alves et al. (2008), apesar do pinhão-manso não ser cultivado no Brasil, ele mostra-se uma viável para a agricultura familiar das regiões Norte e Nordeste, pois apresenta uma alta resistência a seca e uma boa adaptação as altas temperaturas, visando uma alternativa promissora na geração de emprego e renda.

1.1 Sistemas de manejo da cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas L.*)

O cultivo do pinhão-manso vem crescendo nos últimos anos e ainda há carência de informações sobre seu manejo, visando alta produtividade com o mínimo de risco econômico e ambiental (ROCHA *et al.*, 2010). Uma das principais metas no estudo de manejos do solo é buscar e desenvolver um sistema de manejo adaptado às condições edafoclimáticas, social e cultural de cada região, buscando práticas voltadas à sustentabilidade, contribuindo para a manutenção e qualidade do solo, podendo, assim, obter uma produtividade da cultura em longo prazo. O pinhão-manso é uma espécie resistente à seca, podendo se desenvolver em vários tipos de solo, inclusive nos arenosos, salinos, alcalinos e rochosos, os quais, sob o ponto de vista nutricional e físico, são solos restritivos ao pleno desenvolvimento de raízes (ALVES et al., 2008). Segundo Arruda et al. (2004), o pinhão-manso deve, preferencialmente, ser cultivado em solos mais profundos, bem estruturados e pouco compactados, para que o sistema radicular possa se desenvolver e explorar maior volume de solo, satisfazendo a necessidade da planta em nutrientes. A cultura do pinhão-manso vem sendo implantada visando o controle de erosão, a recuperação de áreas degradadas, a contenção de encostas de dunas e como cerca viva em divisões internas (Alves et al., 2008). O pinhão-manso é propagado por sementes obtidas a partir da planta matriz selecionada e por estaquia (DRUMOND et al., 2007). Segundo Neves et al. (2007), a viabilidade da propagação comercial de mudas por estaquia depende da capacidade de enraizamento de cada espécie e da qualidade do sistema radicular formado, a fim de proporcionar um melhor desenvolvimento da planta.

1.2 Potencial do pinhão-manso para o setor agroenergético

Uma crescente preocupação mundial com o meio ambiente tem aumentado a busca por fontes de energia renováveis, colocando o biodiesel no centro das atenções. A busca por caminho de domínio tecnológico, tanto de nível agrônômico como industrial, tem provocado grande impacto na economia brasileira nos últimos anos.

Durante a Segunda Guerra Mundial, o óleo do pinhão-manso foi utilizado para substituir o diesel, na África e na Ásia, o que leva à necessidade da pesquisa sobre o uso deste óleo em motores a diesel (ARRUDA, 2004; CORTESÃO, 1956; MARTINS E CRUZ, 1985; FOILD et al, 1996).

Através do Programa de Biodiesel, o Governo Federal brasileiro vem incentivando o plantio de áreas com pinhão-manso, tanto por pequenos agricultores como por empresas agrícolas que buscam a exploração de novos mercados. Isso se deve às vantagens que o pinhão-manso apresenta em relação à mamona (oleaginosa indicada pelo governo como a primeira escolha para projetos relacionados à agricultura familiar), pois apresenta menos exigência hídrica e nutricional, uma capacidade de recuperação de áreas degradadas em função de suas raízes e uma maior produtividade média (TEIXEIRA, 2005). Arruda et al. (2004) salientam que o pinhão-manso é um produtor de óleo com todas as qualidades necessárias para ser transformado em biocombustível, por ser uma espécie perene e de fácil cultivo, além apresentar uma boa conservação da semente colhida.

O cultivo do pinhão-manso tem como principal objetivo a extração do óleo, pois é possível obter duas toneladas de óleo por hectare (CARNIELLI, 2003). A semente do pinhão-manso contém aproximadamente 40-60% de óleo. Sendo 20% ácidos graxos saturados e o percentual restante é composto por ácidos graxos insaturados (LIMA et al., 2012). Segundo Raja et al. (2011), esta é uma promissora alternativa viável para a produção do óleo diesel, uma vez que tem desejável características físico-químicas e um desempenho comparável ao diesel. A composição do óleo é similar a os outros óleos que são utilizados para fins comestíveis, porém, há presença de alguns fatores

antinutricionais tóxicos, como ésteres de forbol, o que deixa o óleo inadequado para o uso alimentício (HAHS et al., 2004).

Segundo estudos realizados por Ackon e Ertel (2005), o óleo do pinhão-manso reduz as emissões de CO₂, não emitindo gases de efeito estufa e apresenta enxofre em valores inexpressivos, sendo uma alternativa que atende aos fatores ambientais. Contudo, Arruda et al. (2004) descrevem que o óleo do pinhão-manso apresenta um bom rendimento em motores a diesel, quando o mesmo é utilizado cru entretanto, o seu consumo é maior, devido à diferença do poder calórico em relação ao diesel.

1.3 O aspecto fitossanitário do pinhão-manso para o setor agroenergético

Apesar do pinhão-manso apresentar um grande potencial para a produção do biodiesel, ainda é uma espécie não domesticada, também com um numero grande de incertezas em todos os seus aspectos produtivos, econômicos, sociais, ambientais e energéticos. Segundo Franco e Gabriel (2008), essa falta de informação limita o aumento de competitividade e por consequência, o seu plantio em uma grande área representa um investimento de alto risco. Os trabalhos que avaliam a produtividade do pinhão-manso normalmente estão pautados em estimativas que nem sempre correspondem à realidade do campo (ALBUQUERQUE et al., 2009).

Segundo Silva et al. (2012), é necessário o estabelecimento de técnicas que propiciem a colheita uniforme, com uma maior quantidade de óleo e redução dos custos de produção. Ao observar o florescimento e a manutenção dos frutos observou a desuniformidade dos frutos, os que levariam aos produtores a realizarem diversas colheitas na lavoura durante a fase de produção, o que aumentaria o custo da mão de obra o que torna a cultura praticamente inviável economicamente (ALBUQUERQUE et al., 2008; LAVIOLA et al., 2011). Segundo Franco e Gabriel (2008), cultura do pinhão-manso não tolera o mato, uma competição que sempre ocorre na fase inicial de implantação da lavoura e sofre com os processos de interferências causadas pelas plantas daninhas.

Atualmente, as mudanças climáticas levam a implementação de medidas efetivas de adaptação regional, segundo Saturnino et al. (2005), o pinhão-manso é uma espécie tolerante a seca e suporta até três anos de secas consecutivas, paralisando seu crescimento nesse período, levando a perda das folhas. No entanto, Laime et al. (2009), ao avaliar o desenvolvimento do pinhão-manso em função de diferentes lâminas de irrigação com água, observa que a irrigação da cultura influencia positivamente na altura das plantas.

Beltrão e Cartaxo (2006) relatam que o pinhão-manso é uma cultura pouco atacada por pragas. No entanto, segundo Ungaro (2007) ao observar as pragas e as doenças que atacam o pinhão-manso no Estado de São Paulo, destaca que vários insetos utilizam a cultura para a sua alimentação e reprodução, tornando-se pragas em decorrência do aumento acentuado da população. Segundo Concenço et al. (2014), a compreensão do nível de ocorrência e a composição da comunidade de plantas daninhas dentro de cada gestão ou sistema de cultivo é importante para o planejamento de um conjunto de práticas eficiente para o controle dessas espécies.

1.4 Indicadores de qualidade do solo

O solo tem propriedades químicas, físicas e biológicas que interagem de maneira complexa, determinando a qualidade e a capacidade produtiva do mesmo. A comunidade científica, consciente da importância do solo para a qualidade ambiental e preocupada com a degradação dos recursos naturais, iniciou na década de 90 uma ampla discussão sobre qualidade do solo e percepções diferenciadas surgiram desde que o tema foi proposto. Segundo Doran e Parkin (1994), a qualidade de um solo funciona dentro dos limites de um ecossistema natural ou manejado, para a sustentabilidade e a produtividade de plantas e de animais, mantendo a qualidade do ar e da água e promovendo a saúde das plantas, dos animais e do homem (Figura 2). Os estudos que envolvem a qualidade do solo visam identificar um índice que seja capaz de servir como um indicador, que auxilie na avaliação do solo em relação à degradação e às práticas de manejo utilizadas, a fim de monitorar as mudanças ambientais decorrentes (DORAN e PARKIN, 1994; DORAN, 1997).

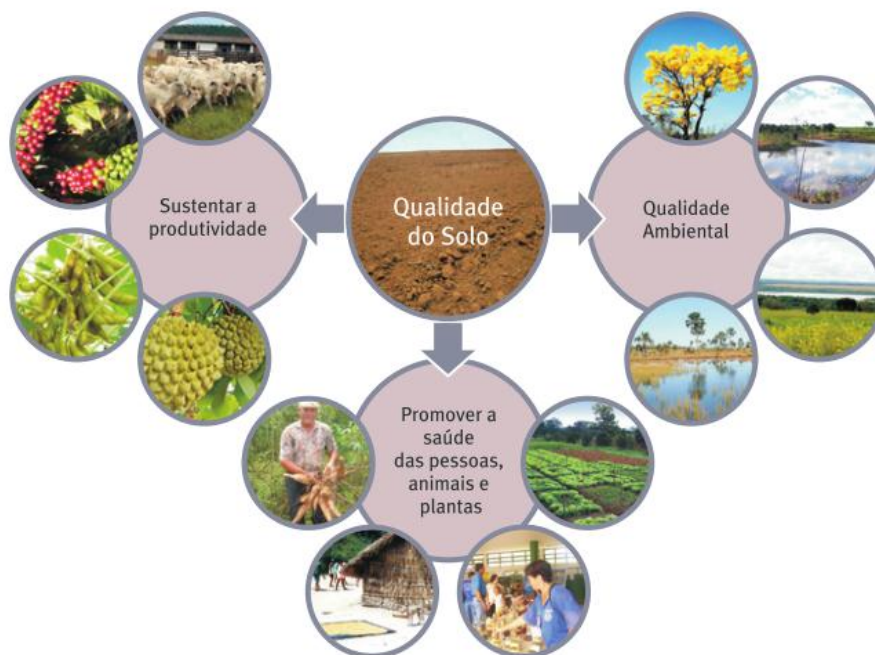


Figura 2: Representação esquemática do conceito de qualidade do solo destacando a importância para o funcionamento global dos ecossistemas. Adaptado de Mendes et al.(2011).

O monitoramento da qualidade do solo deve ser orientado para detectar tendências de mudanças que são mensuráveis em um período relativamente longo (ARAÚJO et al., 2007). Segundo Doran et al. (1996), é fundamental a escolha de um conjunto mínimo de indicadores que apresentem características com facilidade de avaliação, capacidade de integração, adequação ao nível de análise da pesquisa, sensibilidade às variações de manejo e clima e possibilidade de medições por métodos quantitativos ou qualitativos. Por essas razões, é necessário estabelecer um conjunto mínimo de indicadores que englobem os atributos físicos, químicos e biológicos para a análise de qualidade do solo (DORAN e PARKIN, 1994), porém, nenhum desses indicadores individuais iria descrever ou quantificar todos os aspectos da qualidade do solo.

Atualmente, existe na literatura uma grande quantidade de informações acerca dos indicadores de qualidade do solo. Um indicador de qualidade do solo é uma ferramenta que mede uma condição, um processo ou um comportamento, permitindo a

aquisição de informações sobre uma dada realidade, em respostas às atividades antrópicas exercidas dentro de um determinado sistema (MARZALL, 2000). No entanto, Liebig e Doran (1999) alertam para a escolha de determinados atributos, que podem ser adequados para locais específicos, e a transferência desta escolha deve ser restrita a pontos geográficos similares, com características físicas, químicas e biológicas do solo. Dessa forma, a busca pelo estabelecimento de um indicador simples e confiável para a avaliação dos atributos do solo tem sido um dos desafios atuais das pesquisas.

1.5 Atributos microbiológicos de qualidade do solo

O comportamento biológico do solo está intimamente relacionado ao seu funcionamento, apresentando uma inter-relação com os componentes físicos e químicos (MENDES et al., 2011). Como indicador de qualidade do solo, os atributos microbiológicos tem a capacidade de responder rapidamente a mudanças no ambiente do solo, derivada das alterações no manejo, justificando o uso de microrganismos e dos processos microbiológicas para esta finalidade (KENNEDY e PAPENDICK, 1995).

Os atributos microbiológicos têm sido amplamente apresentados e discutidos na literatura como um indicador sensível de qualidade do solo (CARTER, 1986; TRINDADE et al., 2000; TÓTOLA e CHAER, 2002; MATSUOKA et al., 2003; ARAÚJO e MONTEIRO, 2007). A qualificação da biomassa microbiana do solo permite que se avaliem as mudanças iniciais no conteúdo da matéria orgânica, gerada pelas práticas de cultivos (MERCANTE et al., 2008).

A biomassa microbiana do solo é definida como a parte mais ativa da matéria orgânica do solo, incluindo bactérias, actinomicetos, fungos, protozoários, algas e microfauna, excluindo as raízes e animais menores de $5 \times 10^{-3} \mu\text{m}^3$ (JENKINSON e LADD, 1981). Ela representa um importante componente ecológico, pois é responsável pela decomposição e mineralização dos resíduos vegetais do solo, utilizando esses materiais como fonte de nutrientes e energia para a formação e para o desenvolvimento de suas células, bem como para a síntese de substâncias orgânicas no solo (GAMA-

ROGRIGUES, 1999). As Alterações na biomassa microbiana do solo podem ser identificadas com antecedência, quando comparadas às mudanças na matéria orgânica.

A determinação da biomassa microbiana do solo deve ser distinguida da sua atividade, uma vez que não se trata de uma medida da atividade dos microrganismos e sim da massa microbiana viva total do solo, considerando-se a população microbiana como sendo uma entidade única (DE-POLLI e GUERRA, 1999). Assim, torna-se importante a utilização de outras análises, que permitam avaliar a atividade microbiana, indicando assim o estado metabólico da comunidade dos microrganismos presentes no solo (TÓLOLA e CHAER, 2002).

A determinação da atividade metabólica (CO_2) da comunidade microbiana do solo tem sido utilizada para se avaliar a atividade geral da biomassa microbiana, destacando a influência do clima e as propriedades físicas e químicas (GAMA-RODRIGUES, 1999). Nesse sentido, a alta taxa de respiração pode ser interpretada como uma característica desejável ao se considerar que a decomposição dos resíduos orgânicos irá disponibilizar nutrientes para as plantas ou até mesmo uma situação grave, quando a intensa decomposição da matéria orgânica estável gera uma perda de nutrientes (ROSCOE et al., 2006).

Ao avaliar os efeitos das condições ambientais sobre a atividade microbiana do solo, o quociente metabólico $q\text{CO}_2$ é importante, pois expressa a relação $\text{C-CO}_2/\text{C-BMS}$. Este quociente foi proposto originalmente por Andersom e Domsch (1978), baseando-se na teoria do desenvolvimento bioenergético dos ecossistemas, Odum (1969). O $q\text{CO}_2$ refere-se à quantidade de CO_2 incorporada por grama de biomassa em um determinado tempo, expresso a partir da relação $\text{C-BMS}/\text{C-orgânico total}$.

Outro parâmetro utilizado para aferição da qualidade do solo é o quociente microbiano ($q\text{MIC}$), que tem um importante papel na compreensão dos sistemas produtivos, permitindo que se avalie a perda e ganho de carbono no solo. Em circunstâncias de fatores de estresse para os microrganismos, a capacidade de utilização do C é diminuída e conseqüentemente, leva à diminuição do $q\text{MIC}$ (WARDLE, 1994). Segundo Gama-Rodrigues e Gama-Rodrigues (2008). O solo com a presença de matéria orgânica de baixa qualidade nutricional gera um estresse na biomassa microbiana, o que torna incapaz a utilização total do C orgânico, levando à diminuição do quociente

microbiano. O estudo da biomassa microbiana do solo e sua atividade tornam-se de grande importância para se avaliar o estabelecimento de um equilíbrio biodinâmico do solo (D'ANDRÉA et al., 2002).

1.6 Métodos de análise do carbono da biomassa microbiana do solo

Entre os métodos mais utilizados no Brasil para a quantificação da biomassa microbiana do solo, destacam-se o do clorofórmio-fumigação-incubação – CFI (JENKINSON e POWLSON, 1976) e o método de clorofórmio-fumigação-extração – CFE (VANCE et al., 1987) (Figura 3), ambos baseados na esterilização parcial (fumigação) das amostras de solo com clorofórmio. No método CFI, a determinação do tamanho da biomassa é realizada com base no fluxo de CO₂ que é liberado das amostras de solo fumigadas e as não fumigadas, após um período de cerca de 10 dias; no entanto, o método CFE é determinado com base na extração do C-orgânico das amostras fumigadas e não fumigadas (OLIVEIRA et al., 2001; MENDES et al., 2011).

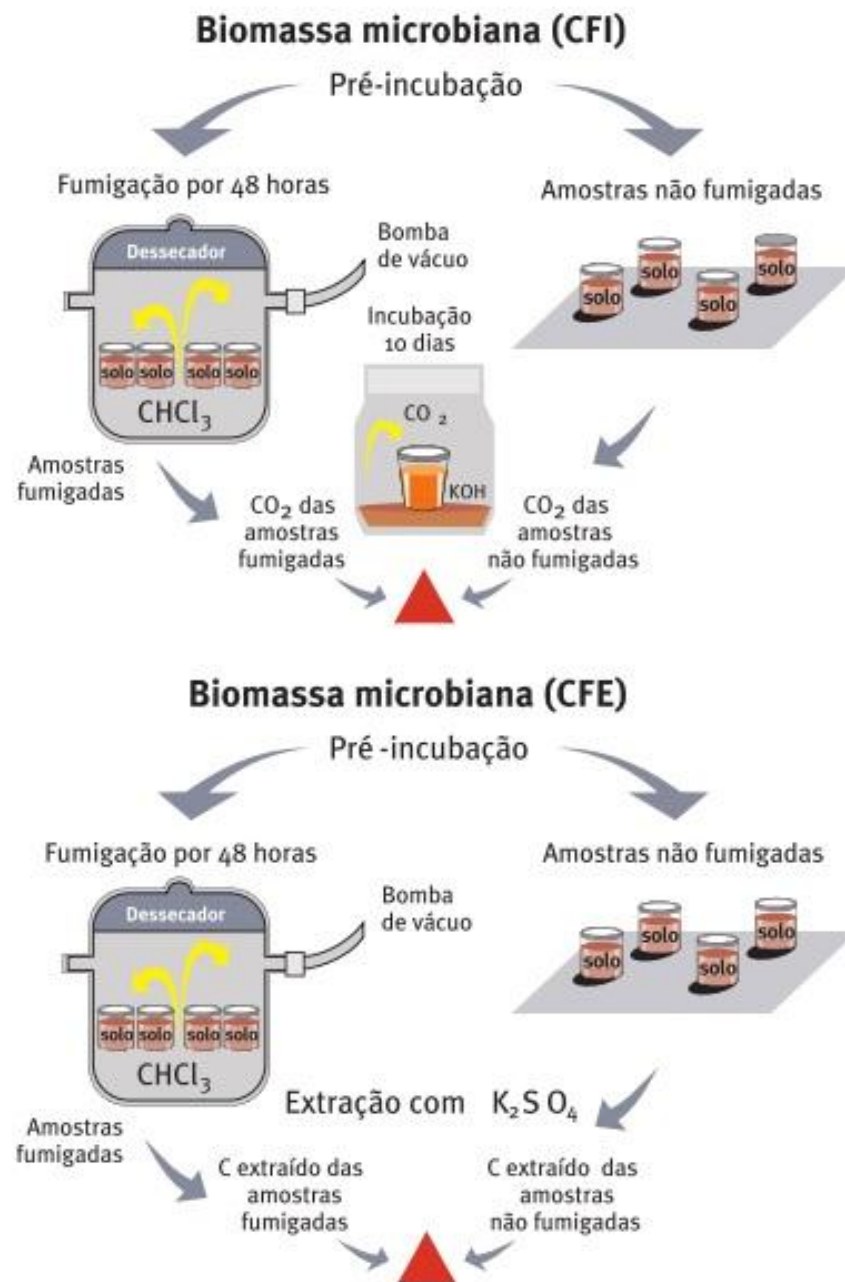


Figura 3: Representação esquemática do método de clorofórmio-fumigação-incubação e o método de clorofórmio-fumigação-extração. Adaptado de Mendes et al. (2011).

Contudo, ambos os métodos apresentam vantagens e desvantagens. A simplicidade no método de CFI e o fato de também pode determinar valores de taxa de respiração microbiana (liberação do CO_2) é uma das principais vantagens do método (OLIVEIRA et al., 2001). Entre as suas limitações, destaca-se o fato do mesmo não poder ser utilizado em áreas que receberam adições recentes de matéria orgânica (MARTENS, 1995). A vantagem do método da CFE é que não há dependência do

estado fisiológico da população microbiana do solo. A desvantagem é a de que, na ausência de um analisador total de carbono, os procedimentos analíticos para a determinação do C extraído das amostras são bem mais complexos e trabalhosos, e envolve a utilização de produtos tóxicos (JENKINSON, 1988; SPARLING e ROSS, 1993; MARTENS, 1995).

Uma metodologia eficiente leva à busca pela padronização da biomassa microbiana do solo, que visa praticidade, menos tempo de trabalho envolvendo as análises e uma boa repetibilidade, permitindo, assim, a construção de uma base de dados para uma posterior identificação de índices de qualidade do solo (ROSCOE et al., 2006., MENDES et al., 2011). Segundo Faleiro et al. (2011), novas metodologias tornam-se um grande desafio e constituem-se na busca de novos métodos para a realização das análises do carbono, capazes de evitar ou reduzir o uso de produtos tóxicos e que sejam realizados sob condições totalmente padronizadas, a fim de permitir a sua reprodutibilidade.

As possibilidades metodológicas existentes para a avaliação da biomassa microbiana do solo são várias e contemplam diferentes abordagens. São métodos bastante utilizados, porém possuem sua confiabilidade bastante questionada, por acabarem sofrendo influência das condições experimentais (GAMA-RODRIGUES, 1994; RODRIGUES et al., 1994; GONÇALVES et al., 2002).

1.6.1 Titulometria

As determinações titrimétricas referem-se à análise química quantitativa efetuada pela determinação do volume de uma solução, cuja sua concentração seja conhecida, que reage quantitativamente com um volume conhecido de solução que contem a substância a ser determinada; a solução de concentração conhecida como solução padrão e o peso da substância a ser determinada são calculados a partir do volume padrão que foi utilizado (VOGEL, 1981). A determinação titrimétrica trata de uma técnica muito utilizada para a determinação quantitativa de diversas substâncias. Segundo Sardella (1998), a titulometria é o estudo que se preocupa em estabelecer a

dosagem das soluções em uma determinada concentração de uma solução, conhecida como solução padrão. O processo em que é adicionada a solução padrão até a reação ser completada é chamado de titulação.

Segundo Beyer (1982), o ponto de titulação em que alguma indicação qualquer assina-la é o termino da reação que é chamado de ponto final. Qualquer propriedade que assinale uma variação em torno do ponto de equivalência pode servir para sinalizar o fim da titulação (OHLWEILER,1981).

1.6.2 Espectrofotometria

O método espectroscópico de análise é baseado na medida de radiação produzida ou absorvida pelas moléculas em um determinado comprimento de onda (SKOOG et al., 2011). Segundo Gonçalves (1988), o método de análise via espectrofotometria de absorção é uma técnica analítica muito específica onde todos os átomos podem ser absorvidos pela radiação e a quantidade de radiação é proporcional a concentração de átomos que estão sendo absorvidos na presente amostra.

O procedimento analítico geral utilizado para a utilização do espectrofotômetro de absorção é descrito por Gonçalves (1988), como sendo:

- 1) A amostra é convertida em solução;
- 2) Preparo de um branco analítico (solução similar à amostra em todos o seus constituintes, que não contém o elemento a ser analisado);
- 3) Preparar a solução de calibração (padrões) contendo quantidade extra do elemento que se deseja analisar;
- 4) Aspirar/atomizar a solução branco e as soluções padrões e medir a resposta para cada solução;
- 5) Elaborar um gráfico de calibração (curva padrão) para cada elemento que se deseja analisar;
- 6) Aspirar/atomizar a solução da amostra.

Obtendo-se o resultado analítico que se deseja. A absorvância é a medida da quantidade de radiação que foi absorvida pelos átomos sob uma dada condição, e ela é a medida que se busca. (GONÇALVES, 1988).

2. Objetivos gerais

2.1 Avaliar e quantificar biomassa microbiana do solo, utilizando-se de atributos microbiológicos em cultivos de pinhão-manso associado a diferentes espécies forrageiras e outras espécies de cobertura, na região Sul de Mato Grosso do Sul.

2.2 Quantificar o carbono da biomassa microbiana do solo, estabelecendo uma comparação entre os métodos de titulometria e espectrofotometria.

Referências

ACKOM, E. K., ERTEL, J. **An alternative energy approach to combating desertification and promotion of sustainable development in drought regions.** In: FORUM DER FORSCHUNG, 18, 2005. Anais..., BTU Cottbus, 2005. p. 74-78.

ALBUQUERQUE, F. A. de.; OLIVEIRA, M. I. O. de.; LUCENA, A. M. A. de.; BARTOLOMEU, C. R. C.; BELTRÃO, N. E. de M. **Crescimento e Desenvolvimento do pinhão-manso: 1º ano agrícola.** Embrapa Algodão, 2008. 21 p. (Documentos, 197).

ALVES, J. M. A.; SOUSA, A. A.; SILVA, S. R. G.; LOPES, G. N.; SMIDERLE, O. J.; UCHÔA, S. C. P. **Pinhão-manso: Uma alternativa para produção de biodiesel na agricultura familiar da Amazônia brasileira.** Agro@mbiente On-line, v.2, 2008.

ANDRÉO-SOUZA, Y.; PEREIRA, A. L.; SILVA, F. F. S.; RIEBEIRO-REIS, R. C.; EVANGELISTA, M. R. V.; CASTRO, R. D.; DANTAS, B. F. Efeito da salinidade na germinação de sementes e no crescimento inicial de mudas de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, p.83-92, 2010.

ARRUDA, F. P. de; BELTRÃO, N. E. de M.; ANDRADE, A. P. de; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semiárido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.

BELTRÃO, N. E. M.; CARTAXO, W. V. **Considerações gerais sobre o pinhão-manso (*Jatrofa curcas* L.) e a necessidade urgente de pesquisas, desenvolvimento e inovações tecnológicas para esta planta nas condições brasileiras.** In: Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, 3., 2006, Lavras. Anais..., UFPA: Lavras- MG, 2006, p. 2-6.

BEYER, G. M. **Análise química.** V. 1, p. 117, 1982.

BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. Secretária de Tecnologia Industrial. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais.** STI/CIT, (Documentos, 16), 1985. p. 364.

CARNIELLI, F. **O combustível do futuro**. 2003. Disponível em: <www.ufmg.br/boletim/bul1413>. Acesso em: 15 de jan. 2014.

CARTER, M. R. Microbial biomass as an index for tillage-induced changes in soil biological properties. **Soil Tillage Research**, v.7, p.29-40, 1986.

CONCENÇO, G.; SILVA, C. J. ; CORREIA, I. V. T. ; SILVA, J. A. N.; SANTOS, S. A.; FRÓES, A. L.; FÁBRIS, D. N. ; STAUT, L. A. Occurrence of weed species in *Jatropha curcas* intercropping systems. **Planta Daninha** (Impresso), v. 32, p. 327-334, 2014.

CORTESÃO, M. Culturas tropicais: plantas oleaginosas. **Clássica**, p.231, 1956.

D'ANDREA, A. F.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.913-923, 2002.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G. M. C, N e P na biomassa microbiana do solo. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. (eds.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Genesis, 1999. p.389-411.

DIAS, L. A. S.; LEME, L. P.; LAVIOLA, B. G.; PALLINI FILHO, A.; PEREIRA, O. L.; CARVALHO, M.; MANFIO, C. E.; SANTOS, A. S.; SOUSA, L. C. A.; OLIVEIRA, T. S. e DIAS, D. C. F. S. **Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) para produção de óleo combustível**, v.1, p. 40, 2007.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWARD, B.A. (eds.). Defining soil quality for sustainable environment. Madison: **Soil Science Society of America**, 1994. p.107 - 124. (SSSA. Special Publication, 35).

DRUMOND, M. A. MARTINS, J.; ANJOS, J. B.; MORGADO, L. B. **Germinação de sementes de pinhão manso em condições de viveiro no Semi-árido pernambucano**. In: I Congresso Internacional de Agroenergia e Biocombustíveis, Embrapa Meio Norte. Anais, 2007.

DRUMOND, M. A.; ANJOS, J. B.; PAIVA, L. E.; MORGADO, L. B.; REIS, E. M. **Produção de pinhão manso no Semiárido brasileiro**. In: Congresso Internacional de Agroenergia e Biocombustíveis, Anais. Embrapa Meio Norte, 2007.

FOIDL, N., FOIDL, G., SANCHEZ, M., MITTELBACH., HACKEL, S. *Jatropha curcas* L. as source for production of biofuel in Nicaragua. **Bioresource Technology**, Fayetteville, n. 58, p. 77-82, 1996.

GAMA-RODRIGUES, E. F. **Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes**. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. (eds.). Fundamentos da material orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais, p.09-26, 1999.

GONÇAVES, E. P. **Princípios básicos de espectrofotometria de absorção atômica**. USP, 1988.

KENNEDY, A. C.; PAPENDICK, R. I. Microbial characteristics of soil quality. **Journal of soil and water conservation**, v.50, n.3, p.243-248, 1995.

LAIME, E. M. O; FREIRE, E. de A; VERAS, R. P; FERNANDES, P. D; OLIVEIRA, D. C de S. Desenvolvimento de pinhão-manso em função de diferentes lâminas de irrigação com água superficial poluída. **Revista Educação Agrícola Superior**, v.24, n.2, p. 107-111, 2009.

LAVIOLA, B. G.; BHERING, L. L.; MENDONÇA, S.; ROSADO, T. B.; ALBRECHT, J. C. Caracterização morfo-agronômica do banco de germoplasma de pinhão-manso na fase jovem. **Bioscience Journal**, v.27, p.371-379, 2011.

LAVIOLO, B. G.; DIAS, L. A. S. Teor e acúmulo de nutrientes em folhas e frutos de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.1969-1975, 2008.

LIMA, M. L. B. de; LIMA, V. S. F.; SILVA, T. M. de; ALMEIDA, J. P. N. de. Pinhão manso como alternativa para produção de biodiesel. **Agropecuária Científica no Semi-árido**, v. 8, n. 4, p 01-07, 2012.

MARTINS, E. R. F., CRUZ, N. D. Pesquisas em desenvolvimento com pinhão-paraguaio no Instituto Agrônômico. **O Agrônômico**, v. 37, n. 2, p. 109-113, 1985.

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

perenes na região de Primavera do Leste (MT). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p.425-433, 2003.

MELO, R. D.; LEE, G. T. S.; MASSARO, R. I. **Influência da poda na produção de pinhão manso (*Jatropha Curcas* L.)**. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16., 2008, São Carlos. Anais ..., São Carlos: UFSCar, 2008. v. 4, p. 381.

MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B dos; HUNGRIA, M.; FERNANDES, M. F; CHAER, G. M; MERCANTE, F. M; Zilli, J. E. **Microbiologia do solo e sustentabilidade de sistemas agrícolas**. In: Fábio Gelape Faleiro; Solange Rocha Monteiro de Andrade; Fábio Bueno dos Reis Junior. (Org.). *Biotecnologia estado da arte e aplicações na agropecuária*. 1ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, v. 1, p. 219-244, 2011.

MERCANTE, F. M.; SILVA, R. F.; FRANCELINO, C. S. F.; CAVALHEIRO, J. C. T.; OTSUBO, A. A. Biomassa microbiana em um Argissolo Vermelho, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 34, p.479-485, 2008.

NEVES, J. M. G., SILVA, H. P. da, BRANDÃO JUNIOR, D. da S., MARTINS, E. R. **Efeito da remoção do tegumento e da temperatura na germinação de sementes de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, Anais., Lavras: UFLA, 2007. p. 1500-1508.

NUNES, F. N. Morfologia externa e frutos, sementes e plântulas de pinhão-manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 2, p. 207-210, 2009.

OHLWEILER, Otto Alcides. **Química analítica quantitativa**. Livros técnicos e científicos S.A, v. 3, p. 51, 1981.

RAJA, S. A.; SMART, D. S. R.; LEE, C. L. R. Biodiesel production from *Jatropha* oil and its characterization. **Research Journal of Chemical Sciences**, v. 1, p. 81-87, 2011.

ROCHA, P. R. R.; SILVA, A. F.; FARIA, A. T.; GALON, L.; FERREIRA, E. A.; FELIPE, R. S.; SILVA, A. A.; DIAS, L. A. S. Seletividade de herbicidas pré-emergentes ao pinhão-manso (*Jatropha curcas*). **Planta daninha [online]**., vol.28, n.4, p. 801-806, 2010.

SARDELLA, A. **Curso de Química- Química Geral**. v. 1, p. 44, 1998.

SATO, M.; BUENO, O. de C.; ESOERANCINI, M. S. T.; FRIGO, E. P. A cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.): uso para fins combustíveis e descrição agrônômica. **Revista Varia Scientia**, v.07, n.13, p. 47-62, 2009.

SHAH, S.; SHARMA, S.; GUPTA, M. N. Biodiesel preparation by lipase-catalyzed transesterification of *Jatropha* oil. **Energy & Fuels**, v.18, p.154-159, 2004.

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, **Fundamentos de Química Analítica**. v. 8^a Edição norte-americana, 2011.

SPINELLI, V. M.; ROCHA, R. B.; RAMALHO, A. R.; MARCOLAN, A. L.; VIEIRA, J. R.; FERNANDES, C. de F.; MILITÃO, J. S. T.; DIAS, L. A. dos S. Componentes primários e secundários do rendimento de óleo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Ciência Rural**, v.40, p.1752-1758, 2010.

TEIXEIRA, L. C. Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 1827, 2005.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R.; BARROS, N. F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M. (Eds) **Tópicos em Ciências do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Tópicos em ciência do solo, v.2, p. 195-276, 2002.

UNGARO, M. R. G.; REGITANO NETO, A. Considerações sobre pragas e doenças de pinhão-manso no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 4., 2007, Varginha. Anais... Lavras: UFLA. 2007, p. 729-735 e CD-ROM.

VOGEL, Arthur I. **Análise inorgânica quantitativa**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois SA. 1981.

WARDLE, D. A. Metodologia para quantificação de biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M & ARAÚJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília, Embrapa, p. 419-436, 1994.

CAPÍTULO 2 - BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO EM CULTIVOS DE PINHÃO-MANSO CONSORCIADO COM DIFERENTES ESPÉCIES VEGETAIS

Resumo: A cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) no território brasileiro tem sido impulsionada pelo seu grande potencial na produção de grãos, óleo e, em destaque, pela sua adaptação em diferentes condições edafoclimáticas. O sistema de manejo empregado atualmente tem condicionado ao aumento dos atributos microbiológicos do solo em áreas com diferentes consórcios e cobertura vegetal, levando a contribuindo na produtividade agrícola e, conseqüentemente na conservação do solo. Neste contexto, o presente trabalho tem o objetivo de avaliar a biomassa microbiana do solo e seus índices derivados, como os quocientes metabólicos e microbianos, em cultivos de pinhão-manso consorciados com diversas espécies forrageiras, adubos verdes e três sistemas de rotação de cultura anuais; um sistema com cultivos de eucalipto e outro com vegetação nativa foram utilizados como referencial da condição original do solo. A cultura do pinhão-manso foi implantada em novembro de 2006 e as espécies de cobertura, em janeiro de 2009, na Fazenda Paraíso, Distrito de Itahum, no Município de Dourados-MS. A amostragem do solo foi realizada em fevereiro e maio de 2012, na profundidade 0 – 10 cm, sendo coletadas cinco amostras compostas, oriundas de cinco subamostras. Os resultados mostraram que a vegetação nativa foi superior aos demais sistemas de manejo quanto aos parâmetros microbiológicos do solo avaliados. O consórcio do pinhão-manso com a espécie forrageira braquiária ruzizensis (*Brachiaria ruzizensis*), favorece a manutenção da comunidade de microrganismos do solo em comparação ao tratamento com as espécies de cobertura Capim-massai (*Panicum maximum* cv. *Massai*) e Guandu-anão (*Cajanus cajan*), que promoveu uma redução Na dinâmica da matéria orgânica do solo, quando comparada aos demais sistemas manejados.

Palavras-chaves: *Jatropha curcas* L., consórcio de culturas, atributos microbiológicos.

Introdução

Uma crescente preocupação mundial com o meio ambiente tem aumentado a busca por fontes de energia renováveis. O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie perene, monoica, pertencente á família das Euforbiáceas, a mesma da mamona (*Ricinus* sp.). A planta possui rápido crescimento, podendo atingir até cinco metros de altura em condições especiais; é nativo das Américas e vem se destacando em todo o Brasil (LAVIOLA et al., 2011; ARRUDA et al., 2004). Vem se destacando, por apresentar um alto potencial para atender ao programa nacional de produção de biodiesel e por ser uma espécie que apresenta um grande rendimento de óleo, produzindo, no mínimo, duas toneladas de óleo por hectares/ano (LAVIOLA et al., 2011).

A cultura que pode ser desenvolvida em pequenas propriedades, com a mão de obra familiar (PURCINO e DRUMMOND, 1986) representando sua técnica de baixo custo, capaz de apresentar um aumento do rendimento no sistema de produção. Como uma grande expressão para a agricultura de subsistência, o consórcio de culturas tem sido a prática mais utilizada (RAPOSO, 1995). O consórcio de culturas é uma prática que busca sistemas que reduzem os riscos de perdas, um maior aproveitamento da propriedade e um maior retorno econômico, além de constituir uma alternativa altamente viável para aumentar a oferta de alimentos (ANDRADE et al., 2001). Segundo Alvarenga et al. (2001), o consórcio entre culturas perenes com espécies de plantas de cobertura apresenta grande eficiência no controlo da erosão, com a manutenção de resíduos vegetais na superfície do solo, propiciando, assim, um aumento na disponibilidade de nutrientes.

Contudo, os diversos sistemas de uso da terra afetam de alguma forma, a biomassa microbiana do solo (BMS), o que pode acabar intensificando ou retardando os processos de decomposição, mineralização e humificação do solo (ROSCOE et al., 2006). A BMS pode sobreviver no solo em quantidades mínimas, consumindo a matéria orgânica presente no mesmo. A adição de resíduos orgânicos frescos no solo pode levar ao aumento da população microbiana, aumentando também a quantidade de carbono e nitrogênio armazenado na biomassa microbiana, levando-se assim à sensibilidade dos

microrganismos a adição dos resíduos (WAGNER e WOLF, 1998; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

A BMS compreende a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo, excluindo as raízes e os organismos maiores do que $5 \times 10^{-3} \mu\text{m}^3$, contendo, em média, de 2 a 5 % do carbono orgânico e 1 a 5 % do nitrogênio total presente no solo (JENKINSON e LADD, 1981; CERRI et al., 1992; DE-POLLI e GUERRA, 1999). Segundo Gama-Rodrigues (1999), a biomassa microbiana constitui a maior parte da fração ativa, conseqüentemente, é mais sensível que o C orgânico e o N total em aferir as mudanças decorrentes dos manejos e das práticas agrícolas utilizadas. No entanto, de acordo com Anderson e Domsch (1989), a relação do carbono microbiano e o carbono orgânico total presentes no solo aumentam ou diminui rapidamente, conforme ocorram a elevação ou a diminuição rápida dos organismos presentes no solo em um sistema ecológico, promovendo assim um equilíbrio no ecossistema.

O processo de decomposição por meio da BMS baseia-se na ação da fauna do solo, principalmente a mesofauna e a macrofauna, que gera a fragmentação dos resíduos vegetais, levando ao aumento da área de contato da decomposição (LAVELLE, 1997). Como um parâmetro determinante, a avaliação da BMS é de fundamental importância para os estudos de extensão dos processos ocorridos no solo, como o monitoramento ambiental (DE-POLLI, 1999; WANG et al., 2003). A BMS permite que se obtenha informações rápidas sobre as mudanças nas propriedades orgânicas do solo, detectando mudanças causadas pelo cultivo inadequado ou pela devastação das florestas (FRIGHETTO, 2000).

Neste contexto, a BMS e sua atividade vêm se destacando como indicadores sensíveis para detecção das alterações ambientais, geradas pelo manejo adotado pelos agricultores, podendo-se assim orientar o planejamento das práticas agrícolas sustentáveis mais adequadas (DORAN et al., 1994; MATSUOKA et al., 2003). Assim, estudos envolvendo a biodinâmica do solo em sistemas com diferentes espécies forrageiras podem ser apontados como uma forma de manejo mais sustentável, amenizando as conseqüências ambientais dos impactos negativos (FERNANDES et al., 2013). A preconização dos sistemas de manejo que condicionem ao aumento dos atributos microbiológicos em áreas com diferentes consórcios no âmbito da conservação

dos sistemas produtivos interferem diretamente no funcionamento do solo e, conseqüentemente, na sustentabilidade dos agroecossistemas, atuando como um indicador de sua degradação (MERCANTE et al., 2004; SOUZA, 2011).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a biomassa microbiana do solo e seus índices derivados (quocientes metabólicos e microbianos) em cultivos de pinhão-manso consorciados com diversas espécies forrageiras, adubos verdes e três sistemas de rotação de culturas anuais.

1. Material e Métodos

Os cultivos de pinhão-manso foram implantados na Fazenda Paraíso, localizada nas coordenadas geográficas com Latitude Sul 22°05'44" e Longitude W 55°18'48", no distrito de Itahum, Município de Dourados - MS, em área de Latossolo Vermelho Distrófico, com teores médios de 200 g kg⁻¹ de argila. Os dados agroclimáticos mensais de precipitação pluvial (mm) e temperatura (°C) durante o período de estudo encontram-se na Figura 1.

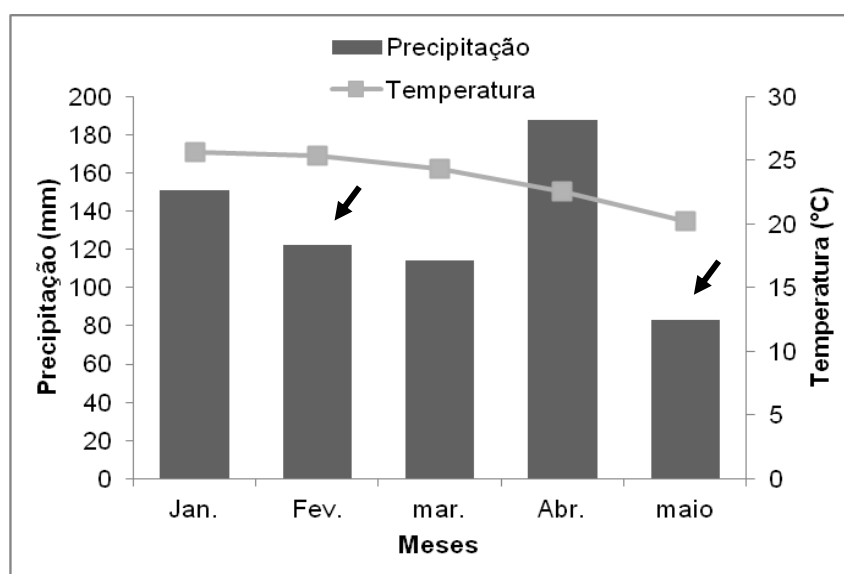


Figura 1. Precipitação pluvial e temperatura média mensal, registrada na estação meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste - Dourados, MS. As setas indicam as épocas de amostragens do solo.

A cultura do pinhão-manso foi implantada em novembro de 2006, por meio de semeadura direta no campo, em espaçamento de 3x2 m e as espécies de cobertura, em janeiro de 2009, sendo conduzidas no delineamento em blocos casualizados, as espécies foram cultivadas em espaçamento de 0,45m nas entrelinhas. As parcelas experimentais foram constituídas de quatro repetições e treze tratamentos com espécies forrageiras consorciadas nas entrelinhas do pinhão-manso. Os tratamentos foram: testemunha, pinhão-manso sem nenhuma espécie cultivada nas entrelinhas. As espécies forrageiras incluíram: estilosantes-campo-grande (*Stylosanthes* spp.); braquiária ruzizensis (*Urochloa ruzizensis*); braquiária-ruzizensis + estilosantes-campo-grande; braquiária-humidícola (*Urochloa humidicola*); e capim-massai (*Panicum maximum* cv. *Massai*). Os sistemas de rotação de cultura anuais: rotação de cultura 1 (amendoim – crambe – feijão – milho); rotação de cultura 2 (milho safrinha – crambe – soja – amendoim); rotação de cultura 3 (feijão-caupi – nabo – milho – feijão-caupi). As espécies de adubos verdes: guandu-anão (*Cajanus cajan*); e crotalária (*Crotalaria spectabilis*). Uma área adjacente com vegetação nativa (Floresta Semidecidual) foi concluída no estudo para comparação.

O manejo das espécies foi realizado por meio de roçadas, de acordo com a altura indicada para cada espécie, e os resíduos vegetais resultantes das roçadas foram distribuídos sobre as parcelas, para o efeito de cobertura.

As amostragens do solo foram realizadas em duas épocas: fevereiro de 2012 e maio de 2012, na profundidade de 0-10 cm, com quatro amostras compostas para cada tratamento. Cada amostra foi constituída por cinco subamostras. Após a homogeneização das amostras, estas foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em câmara fria (4° C), para a realização das análises laboratoriais. O solo foi caracterizado quimicamente (Tabela 1), de acordo com Claessen (1997); parte das amostras coletadas foi utilizada para as determinações microbiológicas.

Tabela 1. Características químicas de amostras de solo. Valores médios de duas épocas de avaliação, em sistemas consorciados com pinhão-manso. Distrito de Itahum, Dourados, MS.

Sistemas	pH	MO	P	K	Ca	Mg	H + Al	CTC	V
	H ₂ O	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	-----	-----	cmol _c dm ⁻³ -----	-----	-----	%
Testemunha	6,0	15,5	5,5	0,1	2,2	1,1	2,3	5,9	60,7
Estilosantes-campo-grande	6,2	16,6	5,5	0,2	2,2	1,0	2,6	6,1	57,5
Braquiária ruziziensis	6,1	17,3	5,5	0,1	2,2	2,0	2,7	6,4	57,6
Braquiária-ruziziensis + estilosantes	6,3	16,5	5,6	0,2	2,1	1,1	2,3	5,9	60,8
Braquiária-humidícola	6,3	16,8	5,7	0,2	2,4	1,3	2,5	6,3	63,7
Capim-massai	6,4	14,9	5,5	0,1	1,9	1,0	2,6	5,8	55,0
Guandu –anão	6,2	15,4	5,6	0,2	2,2	1,1	2,5	6,2	59,1
Crotalária	6,3	15,1	5,6	0,1	2,1	1,0	2,7	6,0	61,1
*Rotação de cultura 1	6,3	16,4	5,7	0,1	2,2	1,0	2,4	5,8	61,9
*Rotação de cultura 2	6,2	17,3	5,7	0,1	2,1	1,0	2,6	6,1	60,4
*Rotação de cultura 3	6,2	16,2	5,6	0,14	2,3	1,1	2,6	6,2	58,3
Vegetação Nativa	5,3	24,4	4,5	0,2	1,5	1,2	6,6	8,7	21,4

* Rotação de cultura 1 (amendoim – crambre – feijão – milho), rotação de cultura 2 (milho safrinha – crambre – soja – amendoim) e rotação de cultura 3 (feijão-caupi – nabo – milho – feijão-caupi).

As análises do carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS) foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Agropecuária Oeste. O C-BMS foi avaliado pelo método de fumigação-extração, de acordo com Vance et al. (1987) e Tate et al. (1988). As amostras foram peneiradas (<2 mm) e subdivididas em triplicatas, sendo uma parte submetida ao processo de fumigação com clorofórmio previamente purificado, seguida de extração; a outra parte, apenas ao processo de extração. A extração do C-BMS foi realizada utilizando K₂SO₄ 0,5 M. As amostras foram submetidas à leitura em um espectrofotômetro, com comprimento de onda de 495 nm.

Determinou-se a respiração basal (C-CO₂), obtida pela incubação das amostras com captação de CO₂, com NaOH (1N), durante sete dias, pelo método da fumigação-incubação, proposto por Jenkinson e Powlson (1976). O quociente metabólico (*q*CO₂) foi determinado segundo Anderson e Domsch (1990), sendo esse atributo obtido a partir da relação de C-CO₂/C-BMS; os quocientes microbianos (*q*MIC) foram obtidos pela relação do C-BMS/ C-orgânico total. A matéria orgânica do solo (MO) foi determinada

no Laboratório de Análises de Solos da Embrapa Agropecuária Oeste, utilizando o método descrito por Claessen (1997).

O delineamento estatístico adotado foi o de blocos casualizados, em um esquema fatorial 13x2, sendo onze tratamentos com espécies consorciadas com pinhão-manso, mais um sistema com eucalipto e outro com vegetação nativa, e as duas épocas de avaliação. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa estatístico Assistat (SILVA e AZEVEDO, 2009).

Os parâmetros referentes à biomassa microbiana do solo e índices derivados foram submetidos à análise de agrupamento (*cluster analysis*), adotando-se o método do vizinho mais distante (*complete linkage*) a partir da distância euclidiana, para descrever a similaridade entre os sistemas estudados. As análises de agrupamento foram processadas por meio do programa Statistica (HILL e LEWICKI, 2007).

2. Resultados e Discussão

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 2), os tratamentos com as espécies forrageiras estilosantes-campo-grande, braquiária ruziziensis e os tratamentos envolvendo a rotação de culturas 2 (milho safrinha – crambe – soja – amendoim) e rotação de culturas 3 (feijão-caupi – nabo forrageiro – milho – feijão-caupi), consorciados com o pinhão-manso, apresentaram valores do C-BMS significativamente superiores ($p < 0,05$) aos demais tratamentos. Fernandes et al. (2013), ao avaliar a biomassa microbiana e a matéria orgânica em áreas desertificadas cultivadas com pinhão-manso solteiro e consorciado com gramíneas, no Sul do Piauí, observaram que a presença da gramínea em sistemas consorciados favorece o aumento dos teores de carbono e nitrogênio da biomassa microbiana do solo, nas camadas de 0-0,10 m e 0,10-0,20 m, respectivamente. Segundo Stenberg (1999), um sistema com a maior quantidade C-BMS reflete na maior quantidade de matéria orgânica ativa no solo, capaz de manter uma elevada taxa de decomposição de restos vegetais, reciclando mais nutrientes. Os tratamentos com os menores valores de C-BMS foram observados na testemunha sem

uso de espécies consorciadas, além dos consórcios com capim-massai e com os adubos verdes guandu-anão e crotalária, resultado esse que pode estar relacionado ao sombreamento excessivo o que prejudica o crescimento das espécies forrageiras (DIAS-FILHO, 2007).

Entre as épocas de amostragem do solo (Figura 1), devido à maior temperatura e precipitação pluviométrica no mês de fevereiro/2012 ocorreram os maiores valores do C-BMS do que a amostragem realizada no mês de maio/2012, para a determinação C-BMS. Segundo Piao et al. (2000), durante o período de estação seca, parte da biomassa microbiana morre e, com a retomada das chuvas e incremento da umidade do solo, a biomassa sobrevivente utiliza a matéria orgânica acumulada no solo, ocorrendo, desta forma, uma maior atividade microbiana, durante o período chuvoso.

Tabela 2. Valores médios de carbono da biomassa microbiana (C-BMS), respiração basal (C-CO₂), quociente metabólico (*q*CO₂), quociente microbiano (*q*MIC) e matéria orgânica do solo (MOS), em duas épocas de avaliação, em sistemas consorciados com pinhão-manso. Distrito de Itahum, Dourados, MS.

Sistemas	C-BMS	C-CO ₂	<i>q</i> CO ₂	<i>q</i> MIC	MOS
	μg C g ⁻¹ solo seco	μg C-CO ₂ g ⁻¹ solo dia	μg C-CO ₂ μg ⁻¹ C-BMS h ⁻¹	%	g kg ⁻¹
Testemunha	124,7 c	11,1 c	37,3 b	1,5 b	13,8 b
Estilosantes-campo-grande	209,6 a	20,2 a	43,4 b	2,3 a	15,7 a
Braquiária ruziziensis	205,6 a	12,6 c	27,1 b	2,1 a	16,4 a
Braquiária-ruziziensis + estilosantes	188,1 b	21,7 a	50,2 b	1,9 a	16,3 a
Braquiária-humidícola	170,8 b	16,6 b	44,1 b	1,7 b	16,9 a
Capim-massai	109,3 c	18,6 b	77,5 a	1,2 c	15,9 a
Guandu –anão	106,7 c	17,9 b	77,3 a	1,1 c	15,2 a
Crotalária	126,7 c	18,0 b	64,2 b	1,3 c	16,4 a
*Rotação de cultura 1	169,7 b	14,9 c	37,1 b	2,1 a	14,2 b
*Rotação de cultura 2	205,9 a	13,4 c	32,1 b	2,5 a	14,4 b
*Rotação de cultura 3	205,7 a	11,0 c	23,9 b	2,3 a	15,2 a
Vegetação Nativa	409,7	23,6	25,9	3,4	21,4
-----Épocas de avaliação-----					
Fevereiro/2012	175,8 a	14,8 b	40,2 b	2,0 a	14,9 b
Maio/2012	155,5 b	17,2 a	53,3 a	1,6 b	16,1 a

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. * Rotação de cultura 1 (amendoim – crambe – feijão – milho), rotação de cultura 2 (milho safrinha – crambe – soja – amendoim) e rotação de cultura 3 (feijão-caupi – nabo forrageiro – milho – feijão-caupi).

Entre os parâmetros microbiológicos avaliados (Tabela 2), a respiração basal (C-CO₂) os tratamentos com as espécies forrageiras estilosantes-campo-grande e braquiária-ruzizensis + estilosantes proporcionaram os maiores valores de C-CO₂. A presença de resíduos sobre o solo, em geral, promove o aumento da atividade dos microrganismos heterotróficos, onde os valores mais expressivos de C-CO₂ levam ao a uma maior atividade biológica, apresentando uma estreita relação com o C-BMS (VARGAS e SCHOLLES, 2000). Silva et al. (2007) observaram efeitos significativos em relação à respiração basal, entre a interação de culturas de coberturas e as épocas de amostragem, ao avaliar os atributos microbiológicos do solo sob influencia da cobertura vegetal. Os demais tratamentos avaliados apresentaram menores valores de C-CO₂, em comparação aos fragmentos de braquiária-humidícola, capim-massai e crotalária. Segundo Gama-Rodrigues (1999), na medida em que a biomassa microbiana do solo se torna mais eficiente, menos carbono é perdido como CO₂, pela respiração, sendo que uma fração significativa de carbono é incorporada ao tecido microbiano.

O quociente metabólico (qCO_2) é um índice que expressa a relação entre a respiração basal do solo (C-CO₂) e a biomassa microbiana do solo (C-BMS). Segundo Mendes et al. (2009), valores elevados são encontrados em condições ambientais de estresses. Neste estudo, os valores obtidos nos tratamentos consorciados com as espécies de adubo verde capim-massai e guandu-anão apresentaram os maiores índices de qCO_2 , sendo significativamente superior ($p < 0,05$) aos demais tratamentos (Tabela 2). Esses valores evidenciam que nessa área está ocorrendo uma perda do carbono na forma de CO₂ para a atmosfera, ou seja, uma perturbação no ambiente. Os demais tratamentos correspondentes à testemunha, estilosantes-campo-grande, braquiária-ruzizensis, braquiária-ruzizensis + estilosantes, braquiária-humidícola, crotalária, rotação de culturas 1, rotação de culturas 2 e rotação de culturas 3, apresentaram os menores valores. Segundo Silva et al. (2007), menores valores de qCO_2 indicam um agroecossistema mais estável. Carneiro et al. (2008) observaram valores de qCO_2 mais baixos do que nas áreas de cerrado, pastagem nativa, integração lavoura-pecuária e pastagem, com valores mais próximos do estado de equilíbrio. À medida que a biomassa microbiana do solo se torna mais eficiente na utilização de recursos do ecossistema, menos CO₂ é perdido pela respiração e maior é a proporção de carbono incorporado aos tecidos microbianos, resultando em uma diminuição do qCO_2 (CUNHA

et al., 2011). Entre as épocas de amostragem do solo, a avaliação realizada no mês de maio/2012 indicou os maiores valores em relação ao mês de fevereiro/2012 para a determinação do quociente metabólico (qCO_2).

O quociente microbiano ($qMIC$), índice obtido pela da relação C-BMS/C orgânico total, tem sido utilizado para se avaliar a qualidade da matéria orgânica presente no solo. No sistema consorciado com pinhão-manso, os tratamentos com as espécies forrageiras estilosantes-campo-grande e braquiária ruziziensis e os tratamentos com rotação de culturas 1 (amendoim – crambre – feijão – milho), rotação de culturas 2 (milho safrinha – crambre – soja – amendoim) e rotação de culturas 3 (feijão-caupi – nabo – milho – feijão-caupi) apresentaram valores de quociente microbiano acima de 1%. Segundo Cunha et al. (2011), valores de $qMIC$ superiores a 1% indicam que o sistema favoreceu a atividade dos microrganismos, independente do preparo do solo e das culturas de cobertura. Entre as épocas de amostragem do solo, a avaliação realizada no mês de fevereiro/2012 apresentou uma diferença significativa ($p < 0,05$) em relação à avaliação realizada em maio/2012, para as determinações do denominado quociente microbiano ($qMIC$).

O sistema consorciado com pinhão-manso nas áreas com os adubos verdes capim-massai e guandu-anão promoveu uma redução do carbono no solo, comprovado pelo elevado valor do qCO_2 e uma pequena relação do $qMIC$, que associados mostram uma menor atividade microbiana no solo e uma menor ciclagem de nutrientes. Ao avaliar o crescimento e a produção de espécies forrageiras consorciadas com pinhão-manso na mesma área experimental do presente estudo durante o período de 2009 a 2010, Silva et al. (2012) observaram que a espécie guandu-anão consorciada com o pinhão-manso resultou na menor produtividade de matéria seca em comparação com os demais tratamentos. O grau de decomposição do material orgânico, proveniente de espécies leguminosas, é mais rápido se comparado ao das gramíneas, em virtude da sua menor relação de carbono/nitrogênio (SILVA et al., 2007). Segundo Carneiro et al. (2008), a determinação das espécies de cobertura produtoras de fitomassa e os efeitos gerados pelos resíduos no solo são importantes para a adoção de estratégias adequadas de manejo, buscando a sustentabilidade do ecossistema.

Os maiores valores de MO foram observados nos tratamentos consorciados com estilosantes-campo-grande, braquiária ruziziensis, braquiária-ruziziensis + estilosantes, braquiária-humidícola, capim-massai, guandu-anão, crotalaria e sistema de rotação 3 (feijão-caupi – nabo – milho – feijão-caupi) em relação aos demais sistemas de cultivos, indicando que esses tratamentos apresentam um equilíbrio dos nutrientes necessários para o desenvolvimento das plantas. Segundo Rice et al. (1996), a maior parte de matéria orgânica apresenta uma fração estável e resistente as alterações, sendo que mudanças significativas nesta fração podem levar anos ou décadas para serem detectadas.

Em relação à análise de agrupamento, técnica cujo objetivo foi agrupar as diversas espécies de cobertura com base em suas características comuns, foi possível observar a formação de dois grupos interpretáveis (A e B) (Figura 2). Esses dois grupos não apresentam nenhuma similaridade entre si, uma vez que a sua distância de ligação é de 100%. No grupo (A), observa-se a formação de dois níveis de agrupamento (subgrupos), B2 que engloba os tratamentos, estilosantes-campo-grande (ECG), braquiária ruziziensis (BR), rotação de culturas 2 (RC2), rotação de culturas 3 (RC3), braquiária-ruziziensis + estilosantes (BRE), braquiária-humidícola (BH), rotação de culturas 1 (RC1) com 92% de similaridade. Isso demonstra que as espécies de cobertura utilizadas favorecem a microbiota do solo, apresentando características semelhantes ao sistema com vegetação nativa. Esta tendência também foi observada por Mercante et al. (2008), avaliando variáveis microbiológicas sob diferentes coberturas vegetais. Assim, a presença de resíduos na superfície do solo afeta diretamente a microbiota do solo, influenciando positivamente a qualidade do solo.

O grupo B1 engloba os tratamentos com crotalaria (C), capim-massai (CM), guandu-anão (GA) e a testemunha (T) com pinhão-manso sem nenhuma espécie cultivada nas entrelinhas. A formação desse nível demonstra que os efeitos das espécies de cobertura apresentam características na microbiota do solo semelhantes ao sistema testemunha (T) (vegetação espontânea), refletindo uma maior condição de estresse da biomassa microbiana do solo. Segundo Jakelaites et al. (2008), o uso prolongado de uma espécie no sistema, seja na forma de cultura ou forrageira, contribui para a redução gradativa da qualidade do ambiente edáfico. Conseqüentemente, leva à perda de nutrientes, tornando um sistema pouco sustentável.

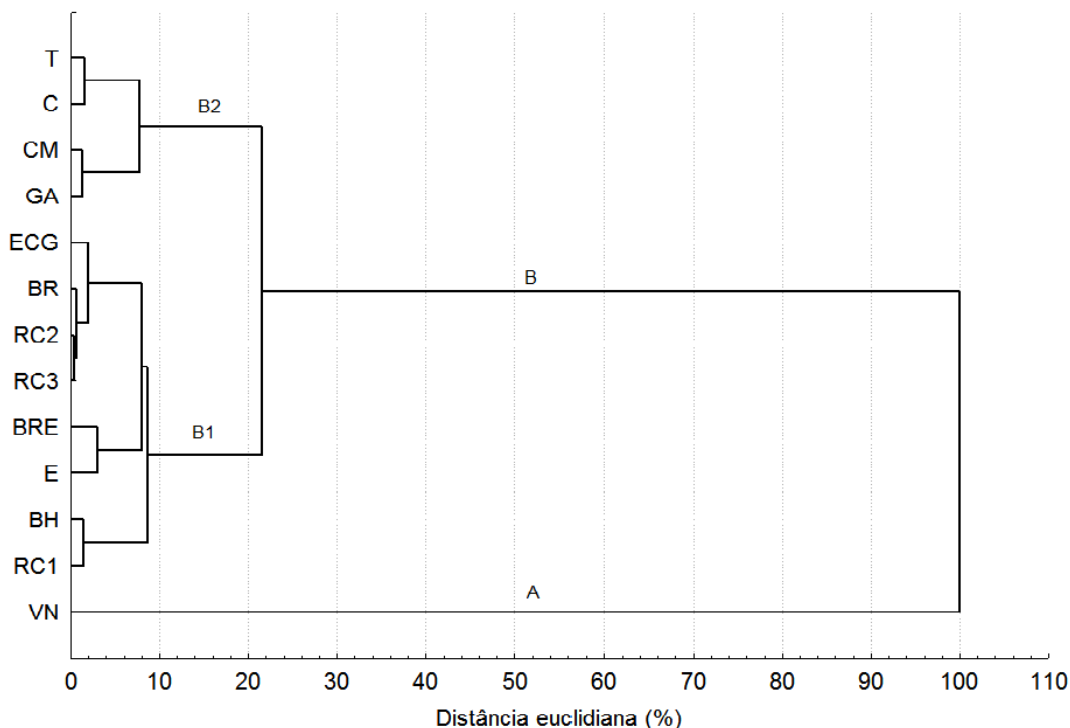


Figura 2. Dendrograma de dissimilaridade dos parâmetros da biomassa microbiana do solo, índices derivados nos sistemas consorciado com diferentes espécies, média de duas épocas de avaliação: testemunha(T), crotalária (C), capim-massai (CM), guandu-anão (GA), estilosantes-campo-grande (ECG), braquiária ruziziensis (BR), rotação de cultura 1 (amendoim – crambre – feijão – milho), rotação de culturas 2 (milho safrinha – crambre – soja – amendoim) e rotação de culturas 3 (feijão-caupi – nabo – milho – feijão-caupi), vegetação nativa (VN).

Na análise dos componentes principais (ACP), a ordenação dos dados no biplot (Figura 3), com diferentes espécies forrageiras no solo, em duas épocas da avaliação, explicou 93% da variabilidade original, onde CP1 e CP2 retiveram 57% e 36%, respectivamente, das informações originais dos dados. Assim, foi possível observar no biplot, diferentes posições das espécies de cobertura do solo. A vegetação nativa se agrupou com a matéria orgânica do solo (MOS) e com a respiração basal ($C-CO_2$), o que provavelmente, na ausência das interferências antrópicas, aliadas ao acúmulo de serapilheira na superfície do solo, pode ter contribuído para este resultado.

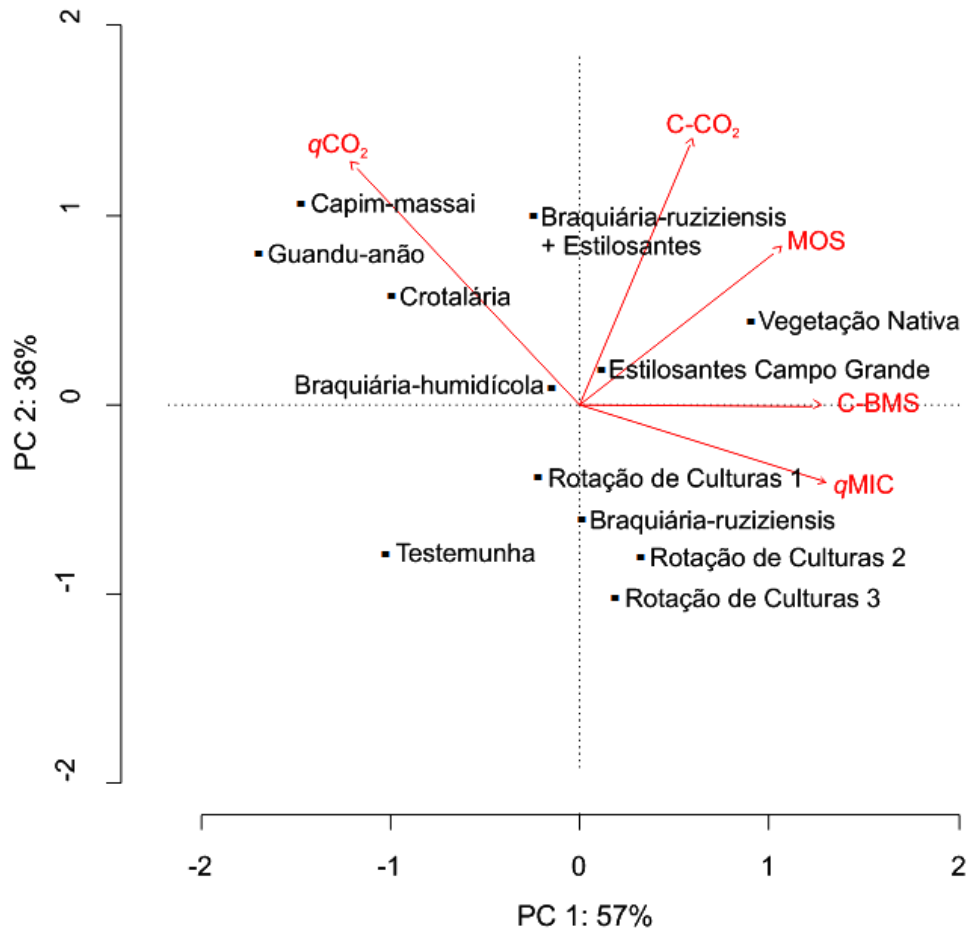


Figura 3. Biplot dos atributos microbiológicos nos diferentes tratamentos com forrageiras consorciadas com pinhão-manso. Rotação de cultura 1 (amendoim – crambre – feijão – milho), rotação de culturas 2 (milho safrinha – crambe – soja – amendoim) e rotação de culturas 3 (feijão-caupi – nabo – milho – feijão-caupi). Média das duas épocas de avaliação. CP1 e CP2 correspondem aos componentes principais.

Portanto, pode-se inferir que diferentes tratamentos com espécies de cobertura do solo consorciados com pinhão-manso favoreceram o equilíbrio dinâmico da biomassa microbiana do solo e, conseqüentemente, a conservação dos agrossistemas.

Considerações finais

1- A biomassa microbiana do solo respondeu às alterações causadas pelas diferentes plantas de cobertura associadas ao pinhão-manso, indicando uma maior dinâmica da matéria orgânica nestes sistemas.

2- O consórcio do pinhão-manso com as espécies de cobertura capim-massai, grandu-anão e croalária promoveu uma redução na dinâmica da matéria orgânica do solo, quando comparado aos demais sistemas consorciados.

3- O consórcio do pinhão-manso com as espécies forrageiras estilosantes-campo-grande, braquiária ruziziensis (*Urochloa ruziziensis*) e os sistemas de rotação com milho safrinha – crambe – soja – amendoim e com feijão-caupi – nabo – milho – feijão-caupi estimulou a manutenção da comunidade de microrganismos do solo, em comparação aos tratamentos sem espécies de cobertura vegetal e com os consórcios com capim-massai e grandu-anão.

Referências

- ALVARENGA, R. C.; LARA CABEZAS, W. A.; CRUZ, J. C.; SANTANA, D. P. Plantas de cobertura de solo para sistema plantio direto. **Informe Agropecuário**, v. 22, p. 25-36, 2001.
- ALVES, J. M. A.; SOUSA, A. A.; SILVA, S. R. G.; LOPES, G. N.; SMIDERLE, O. J.; UCHÔA, S. C. P. **Pinhão-manso: Uma alternativa para produção de biodiesel na agricultura familiar da Amazônia brasileira**. Agro@mbiente On-line, v.2, 2008.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Application of eco-physiological quotients (qCO_2 and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 22, n. 2, p. 251-255, 1990.
- ANDRADE, M. J. B.; MORAIS, A. R.; TEIXEIRA, I. R.; SILVA, M. V. Avaliação de sistemas de consórcio de feijão com milho pipoca. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, p. 242-250, 2001.
- ARRUDA, F. P. de; BELTRÃO, N. E. de M.; ANDRADE, A. P. de; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curca* L.) como alternativa para o semiárido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.
- CARNEIRO, M. A. C.; CORDEIRO, M. A. S.; ASSIS, P. C. R.; MORAES, E. S.; PEREIRA, H. S.; PAULINO, H. B.; SOUZA, E. D. de. **Produção de fitomassa de diferentes espécies de cobertura e suas alterações na atividade microbiana de solo de cerrado**. [online], vol.67, n.2, p. 455-462, 2008.
- CERRI, C. C.; ANDREUX, F.; EDUARDO, B. P. O ciclo do carbono no solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Coordes). Microbiologia do solo, **Sociedade Brasileira de Ciências do solo**, p. 79-90, 1992.
- CLAESSEN, M. E. C. Manual de métodos de análise de solo. 2. ed. **Revista Atual**. Embrapa-CNPS, 1997. p. 212 (Documentos, 1).

CUNHA, E. de Q.; STONE, L. F.; FERREIRA, E. P. de B. F.; DIDONET, A. D.; MOREIRA, J. A. A.; LEANDRO, W. M. Sistemas de preparo do solo e culturas de cobertura na produção orgânica de feijão e milho: II - atributos biológicos do solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo** [online], vol. 35, n. 2, pp. 603-611, 2011.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G. M. C, N e P na biomassa microbiana do solo. In: SANTOS, G. de A.; CAMARGO, F. A. de O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**, Gênese, 1999. p. 389-412.

FERNANDES, M. M.; SILVA, M. D.; VELOSO, M. E da C.; OLIVEIRA, T. M.; FERNANDES, M. R. de M.; SAMPAIO, F. M. T. Biomassa microbiana e matéria orgânica em áreas desertificadas revegetadas com pinhão-manso solteiro e consorciado com gramínea no Sul do Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.8, n. 3, p. 464-469, 2013.

FRIGHETTO, R. T. S. Análise da biomassa microbiana em carbono: método de fumigação extração. In: FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo**. Embrapa Meio Ambiente, 2000. p. 157-166. (Embrapa Meio Ambiente. Documento, 21).

GAMA-RODRIGUES, E. F. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G. A. E CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais.1999**. p. 227-244.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soil: Measurement and Turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. N., ed. **Soil Biochemistry**. Marcel Dekker, v.5. p. 415-471, 1981.

JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v 8, n. 3, p. 209-13, 1976.

LAVELLE, P. Faunal activities and soil processes: Adaptive strategies that determine ecosystem function. **Advances in Ecological Research**, v.27, p. 93-132, 1997.

LAVIOLA, B. G.; BHERING, L. L.; MENDONCA, S.; ROSADO, T. B.; ALBRECHT, J. C. Caracterização morfo-agronômico do banco de germoplasma de pinhão-mansão na fase jovem. **Bioscience Journal**, v. 27, p. 371-379, 2011.

LAVIOLA, B. G.; DIAS, L. A. S. Teor e acúmulo de nutrientes em folhas e frutos de pinhão-mansão. **Revista Brasileira de Ciências do solo**, v. 32, p. 1969-1975, 2008.

MATSUOKA, M.; MENDES, I. C.; LOUREIRO, M. F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 27, n. 3, p. 425-433, 2003.

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

MERCANTE, F. M.; FABRICIO, A. C.; MACHADO, L. A. Z.; SILVA, W. M. **Parâmetros microbiológicos como indicadores de qualidade do solo sob sistema integrados de produção agropecuária.** Dourados, Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 27p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 20).

MERCANTE, F. M.; SILVA, R. F.; FRANCELINO, C. S. F.; CARVALHEIRO, J. C. T.; OTSUBO, A. A. Biomassa microbiana em um Argissolo Vermelho, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. **Acta Scientiarum: agronomy**, v. 30, n. 4, p. 479-485, 2008.

PEREZ, K. S.; RAMOS, M. L. G.; McMANUS, C. Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. **Pesquisa agropecuária brasileira [online]**, v. 39, n.6, p. 567-573, 2004.

PERIN, A.; TEIXEIRA, M. G.; GUERRA, J. G. M. Desempenho de algumas leguminosas com potencial para utilização como cobertura viva permanente de solo. **Agronomia**, v. 34, n. 1/2, p. 38-43, 2000.

PIAO, H. C.; HONG, Y. T.; YUAN, Z. Y. Seasonal changes of microbial biomass carbon related to climatic factors in soils from Karst areas of southwest China. **Biology and Fertility of Soils**, v. 30, n. 4, p. 294-297, 2000.

PURCINO, A. A. C.; DRUMMOND, O. A. **Pinhão-manso**. EPAMIG, p. 7, 1986.

RAPOSO, J. A. de A.; SCHUCH, L. O. B.; ASSIS, F. N. de; MACHADO, A. A. Consórcio de milho e feijão em diferentes arranjos e populações de plantas em Pelotas, RS. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, p. 639–647, 1995.

RICE, C. W.; MOORMAN, T. B.; BEARE, M. Role of microbial biomass carbon and nitrogen in soil quality. In: DORAN, J. W.; JONES, A. J., (Ed.). Methods for assessing soil quality, Madison: **Soil Science Society of America**, 1996. P. 203 – 216. (Special Publication, 49).

ROSCOE, R.; MERCANTE, F. M.; MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B.; SANTOS, J. C. F.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana do solo: fração mais ativa da matéria orgânica.. In: Renato Roscoe; Fábio Martins Mercante; Júlio Cesar Salton. **Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionistas: modelagem matemática e métodos auxiliares**. 1ed. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, v. p. 163-198, 2006.

SILVA NETO, J. A.; SOUZA, C. M. A.; SILVA, C. J.; BOTTEGA, S. P. Crescimento e produção de espécies forrageiras consorciadas com pinhão-manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** (Online), v. 47, p. 769-775, 2012.

SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Principal components analysis in the software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE. **Proceedings**. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SILVA, M. B. da; KLIEMANN, H. J.; SILVEIRA, P. M.; LANNA, A. C. Atributos biológicos do solo sob influência da cobertura vegetal e do sistema de manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.1755-1761, 2007.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; GRISI, B.; HUNGRIA, M. ARAÚJO, R. S. **Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental.** Embrapa, 1994.

SOUZA, L. M. **Atributos químicos, físicos e biológicos, estrutura de comunidades bacterianas e qualidade de solos de cerrado sob plantio direto e preparo convencional.** 2011. 203f. (Dissertação de Mestrado) - Brasília, Universidade de Brasília.

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

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

VANCE, E. D., BROOKES, O. C.; JENKINSON, D. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, n. 6, p. 703-707, 1987.

WAGNER, G. H.; WOLF, D. C. Carbon transformations and soil organic matter formation. In: SYLVIA, D. M.; FUHRMANN, J. J.; HARTEL, P. G. e ZUBERER, D. A., eds. Principles and applications of soil microbiology, **Prentice-Hall**, p. 218-258, 1998.

WANG, W. J.; DALAL, R. C.; MOODY, P. W.; SMITH, C. J. Relationships of soil respiration to microbial biomass, substrate availability and clay content. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 35, n. 2, p. 273-284, 2003.

CAPÍTULO 3 – MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA A QUANTIFICAÇÃO DO CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO

RESUMO: A busca por alternativas mais adequadas nos processos analíticos constitui-se numa estratégia para a redução dos passivos ambientais. O presente estudo teve como objetivo estabelecer uma comparação entre os métodos de titulometria e espectrofotometria de absorção molecular, pela quantificação do carbono da biomassa microbiana do solo em diferentes sistemas de manejo. O método da titulometria consiste na quantificação do C-BMS por titulação das amostras com sulfato ferroso amoniacal e o da espectrofotometria as amostras são submetidas à leitura, num espectrofotômetro, com comprimento de onda de 495nm. A comparação das análises do carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS), por titulometria e espectrofotometria de absorção molecular, foi realizada em dois ensaios: (i) utilizando amostras de solo obtidas em sistema de manejo convencional e sistema plantio direto; e (ii) utilizando amostras de solo obtidas em duas fitofisionomias distintas da região Sul de Mato Grosso do Sul (Cerrado e Floresta Semidecídua). De modo geral, os valores de C-BMS obtidos por titulometria foram superiores aqueles analisados por espectrofotometria de absorção molecular. No entanto, verificou-se uma correlação linear positiva e significativa entre os métodos ($r^2 = 0,948691$). A metodologia que utiliza espectrofotômetro é uma alternativa útil opção viável ao método padrão para a determinação do C-BMS, possibilitando a substituição do método titrimétrico. Desta forma, torna-se possível a eliminação completa da utilização do dicromato de potássio nos procedimentos analíticos e, conseqüentemente, a geração de resíduos tóxicos, além de reduzir a quantidade de H_2SO_2 e de H_3PO_4 nas análises.

Palavras-chaves: dicromato de potássio, qualidade do solo, espectrofotometria.

Introdução

A biomassa microbiana constitui-se na parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo, sendo formada principalmente por fungos, bactérias e actinomicetos (JENKINSON e LADD, 198; ROSCOE et al., 2006). A determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (C- BMS) tem sido utilizada para que se possa avaliar o tamanho do reservatório mais ativo e dinâmico da matéria orgânica do solo (OLIVEIRA et al., 2001). Salienta-se que a biomassa microbiana do solo (BMS) é fundamental para a manutenção e a produtividade dos agroecossistemas, que dependem em grande parte, de processos mediados pelos microrganismos (TÓTOLA; CHAER, 2002; MENDES et al., 2011).

Neste contexto, a importância da determinação da BMS, tem sido destacada na aferição da qualidade do solo, sendo relacionada como o indicador mais sensível para detecção de alteração no manejo dos agroecossistemas (NOGUEIRA et al., 2006; FRANCHINI et al., 2007; MERCANTE et al., 2008; HUNGRIA et al., 2009). Contudo, diversos indicadores de qualidade do solo, incluindo atributos químicos, físicos e outros biológicos, têm sido avaliados para este propósito (DORAN, 1980; MATSUOKA et al., 2003; SILVA et al., 2009; KASCHUK et al., 2010).

A busca pela padronização de uma metodologia eficiente para determinação da BMS visa praticidade, menos tempo de trabalho envolvendo as análises e uma boa repetibilidade, permitindo assim a construção de uma base de dados para uma posterior identificação de índices de qualidade do solo (ROSCOE et al., 2006; MENDES et al., 2011). Segundo Faleiro et al. (2011), novas metodologias tornam-se um grande desafio e constituem-se na busca de novos métodos para a realização das análises do carbono da biomassa microbiana do solo, capazes de evitar ou reduzir o uso de produtos tóxicos e que sejam realizados sob condições totalmente padronizadas, a fim de se permitir a sua reprodutibilidade.

Atualmente, diferentes métodos podem ser empregados para se determinar a BMS, mas entre os mais utilizados destacam-se os descritos por Jenkinson e Powlson (1976), clorofórmio-fumigação-incubação - CFI e Vance et al. (1987), clorofórmio-fumigação-extração - CFE, ambos baseados na esterilização parcial de amostras de

solos através da fumigação com clorofórmio. A eficiência dos dois métodos foi comparada em estudos conduzidos em solos ácidos da Austrália e Nova Zelândia. Wardle e Ghani (1995), ao observarem os solos da Nova Zelândia, encontraram um alto grau de correlação entre os métodos de CFI e CFE em solo de pastagens nativas. Segundo Brandão-Junior et al. (2008), o método CFI tem sido o pioneiro e o mais utilizado, como padrão para a calibração de outros métodos de quantificação do C-BMS.

Contudo, deve-se salientar que determinados métodos analíticos empregados na quantificação do C-BMS, apesar de eficientes, exigem muito tempo para a sua execução, além da manipulação de ácidos e substâncias carcinogênicas, gerando compostos tóxicos, que não podem ser descartados diretamente no meio ambiente, como o dicromato de potássio. O dicromato de potássio é uma substância solúvel em água, altamente tóxico; o seu grande poder de toxidez se deve ao fato de possuir livre difusão através das membranas celulares e de ser um forte agente oxidante (KNUPP e FERREIRA, 2011). Segundo Kotás e Stasicka (2000), o cromo (Cr VI) em grande concentração pode causar sérios problemas celulares, devido a sua alta capacidade de interação com diversos compostos orgânicos, tais como importantes enzimas funcionais, inibindo-as.

Diante dos impactos ambientais causados pela poluição do solo e da água, novas metodologias e/ou validações de métodos são fundamentais, no sentido de se buscar alternativas mais adequadas para uma redução dos resíduos tóxicos gerados pelos processos analíticos. Nesse sentido, o método de espectrofotometria vem alcançando grande destaque devido a sua rapidez, baixo custo de execução e ampla disponibilidade nos laboratórios na determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS) (MARQUES et al., 2012).

O objetivo deste trabalho foi estabelecer uma comparação entre os métodos de titulometria e espectrofotometria de absorção molecular, pela quantificação do carbono da biomassa microbiana do solo em diferentes sistemas de manejo.

2 Material e Métodos

2.1 Caracterizações da área experimental e sistemas de manejo.

Sabendo que a biomassa microbiana controla a decomposição e o acúmulo de matéria orgânica no ambiente, podendo variar em função das condições ambientais e com intuito de obter medida de BMS que possa permitir comparação entre os diferentes solos e com resultados de diferentes localidades, a comparação das análises do carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS), por titulometria e espectrofotometria de absorção molecular foi realizada em dois ensaios.

2.1.1 Ensaio 1 - Amostras de solo obtidas em sistema de manejo convencional e sistema plantio direto:

As amostras de solo foram coletadas em dois sistemas de manejo comparativos, numa área de experimento de longa duração (implantado em 1995), em cultivos adjacentes, estabelecidos no campo experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados-MS (22°16` S e 54°49` W), em um Latossolo Vermelho Distroférico típico, de textura muito argilosa. Os dados agroclimáticos mensais de precipitação pluvial (mm) e temperatura (°C) durante o período de estudo encontram-se na Figura 1. Os manejos incluíram: (i) sistema convencional (SC), com o cultivo de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) no verão e de aveia (*Avena strigosa* Schreb), no outono/inverno; nesse tipo de manejo, o solo foi preparado com grades de disco até 0,20 m de profundidade, sendo utilizado herbicida residual em pré-emergência, numa área de 2,0 ha; e (ii) sistema plantio direto (PD), com soja e milho no verão, rotacionados com trigo, aveia e nabo-forageiro no inverno e milheto na primavera. Um fragmento de mata nativa (Floresta Semidecidual) foi avaliado com referência das condições originais do solo. A amostragem do solo foi realizada em julho de 2012, na profundidade de 0 a 10 cm, sendo coletadas cinco amostras compostas, em cada sistema.

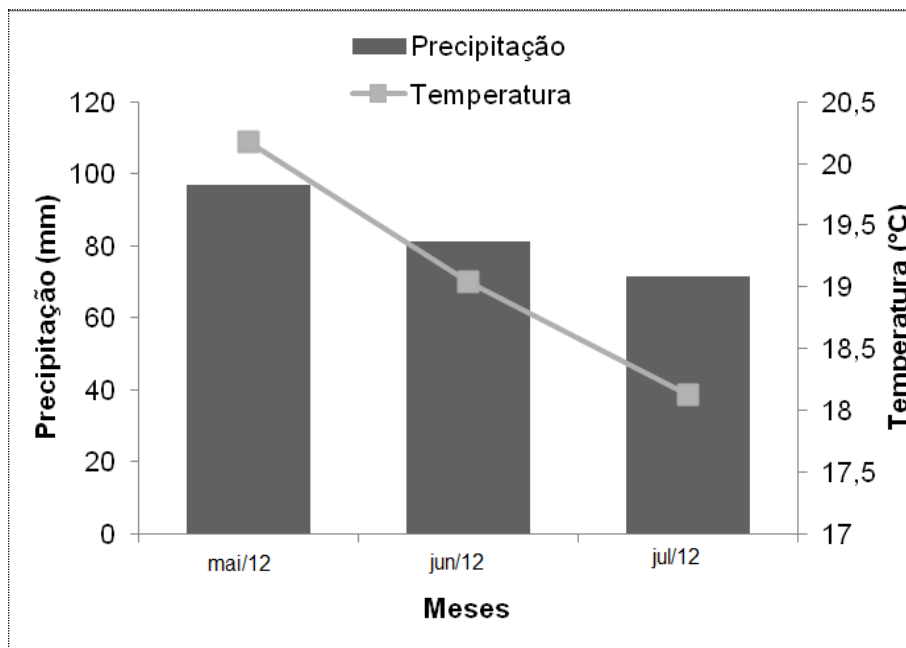


Figura 1. Precipitação pluvial e temperatura média mensal, registrada na estação meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste - Dourados, MS.

2.1.2 Ensaio 2 - Amostras de solo obtidas em duas fitofisionomias (Cerrado e Floresta Semidecídua) da região Sul de Mato Grosso do Sul

A amostragem do solo foi realizada em abril de 2013, em duas fitofisionomias naturais distintas, na região Sul de Mato Grosso do Sul, em um Latossolo Vermelho, com relevo plano. Os sistemas de vegetação nativa foram selecionados com base em levantamentos florístico preliminares (ARRUDA e DANIEL, 2007; GOMES et al., 2007; PEREIRA et al., 2007), levando-se em consideração a Floresta Semidecídua e o Cerrado. Os dados agroclimáticos mensais de precipitação pluvial (mm) e temperatura (°C) durante o período de estudo encontram-se na Figura 2.

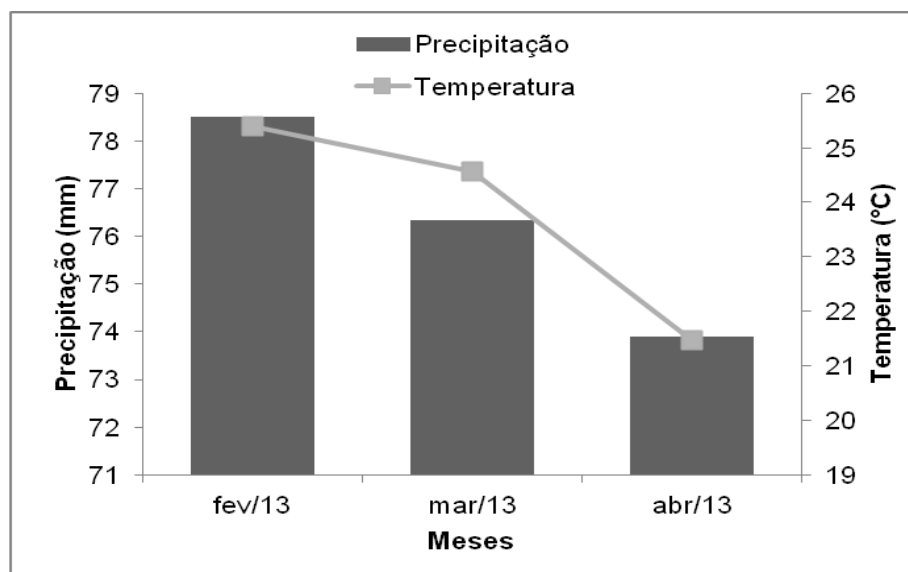


Figura 2. Precipitação pluvial e temperatura média mensal, registrada na estação meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste - Dourados, MS.

As coletas foram realizadas em quatro fragmentos distintos (Tabela 2), sendo coletadas cinco amostras compostas em cada sistema. O solo foi caracterizado quimicamente (Tabela 1), de acordo com Claessen (1997).

Tabela 1. Sistemas de vegetação nativa amostrados na região Sul de Mato Grosso do Sul. Abril, 2013. Dourados, MS.

Vegetação Nativa (designação*)	Município	Latitude s'	Longitude w'	Altitude m
Floresta Semidecídua				
MEMB	Dourados - Embrapa	20°17'05''	54°48'37''	385
MITA	Dourados – Distrito de Itahum	22°04'45''	55°22'33''	428
Cerrado				
CEMB	Dourados - Embrapa	22°17'32''	54°48'26''	381
CEIT	Dourados – Distrito de Itahum	22°05'45''	55°15'22''	451

*MEMB: Mata Embrapa; MITA: Mata Itahum; CEMB: Cerrado Embrapa; CEIT: Cerrado Itahum.

Tabela 2. Características químicas de amostras de solo, sob diferentes fitofisionomias da região Sul de Mato Grosso do Sul.

Sistemas	pH	MO	P	K	Ca	Mg	H + Al	CTC	V
	H ₂ O	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	-----	-----	cmol _c dm ⁻³ -----	-----	-----	%
Mata Embrapa	5,3	54,4	35,2	0,5	3,0	2,0	8,3	13,8	39,7
Mata Itahum	4,4	35,1	65,4	0,7	9,8	3,0	6,8	20,4	68,3
Cerrado Embrapa	4,8	39,0	13,9	0,8	0,1	0,08	6,2	6,6	2,79
Cerrado Itahum	5,0	13,8	39,0	0,5	2,1	1,2	11,2	15,1	25,9

2.2 Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo

Foram utilizadas duas metodologias para a determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS): titulometria e espectrofotometria de absorção molecular. O processo de extração do carbono foi idêntico em ambos os métodos. Inicialmente, amostras de solo foram coletadas, homogeneizadas e acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificados e armazenados em câmara fria ($\pm 4^{\circ}\text{C}$), até o momento da realização das análises. No Laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Agropecuária Oeste, as amostras foram homogeneizadas, destorroadas e peneiradas ($< 2\text{mm}$), borrificadas com água destilada e deionizadas, para capacidade máxima de retenção, e mantidas em recipientes fechadas por 24 horas. Após esta etapa, as amostras de solo foram pesadas em frasco cilíndricos de vidro ripo “snaps”, utilizando-se seis alíquotas de 20 g em triplicatas para a determinação do C-BMS, das quais três subamostras foram fumigadas (acondicionadas no dessecador com 10 mL de clorofórmio (CHCl_3), por 24 horas), e três não fumigadas. Para a extração do C-BMS, as subamostras receberam 50 mL de sulfato de potássio (K_2SO_4) a $0,5\text{ mol L}^{-1}$, sendo agitadas horizontalmente a 220 rpm por 30 minutos. Em seguida, foram filtradas em papel de quantitativo faixa azul de 125 mm, para a separação do extrato. Para determinação da umidade do solo (em estufa à 105°C , por 24 horas) foram pesadas 50 g de solo de cada amostra.

No método de titulometria, coletou-se uma alíquota de 8,0 mL de cada extrato, transferindo-se para erlenmeyer, com adição de 2,0 mL de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) $0,066\text{ mol L}^{-1}$, 5 mL de ácido fosfórico concentrado (H_3PO_4) e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Em seguida, o extrato foi aquecido em chapa ($+ 300^{\circ}\text{C}$) por 5 minutos, sendo posteriormente resfriado e acrescentados 80 mL de água

destilada e deionizada. As alíquotas foram tituladas com sulfato ferroso amoniacal $[(\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})]$ $0,033 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando-se a difenilamina $((\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{NH})$ 1%, como indicador (ponto de viragem da cor violeta para verde).

No método por espectrofotometria foi retirada de cada amostra uma alíquota de 2 mL do mesmo extrato usado para o método de titulometria, que foi transferida para um tubo de ensaio. Em seguida, foram adicionados, em cada subamostra, 3,0mL de água deionizada, 2,5mL de solução de trabalho (300 mL de pirofosfato de sódio $(\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7)$ 0,1M, 46 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,5 M, 20 mL de permanganato de potássio (KMnO_4) 0,1 M, 80 mL de sulfato de manganês mono-hidratado $(\text{MnSO}_4\text{H}_2\text{O})$ 0,1 M) e 2,5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. Posteriormente, as subamostras foram agitadas e mantidas em repouso por 2 horas, sendo, então, submetidas à leitura, num espectrofotômetro, com comprimento de onda de 495nm (BARTLETT e ROSS, 1988).

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram processadas por meio do programa Assistat (SILVA e AZEVEDO, 2009).

3. Resultados e Discussão

De acordo com os resultados obtidos no primeiro (Tabela 2) e no segundo (Tabela 3) ensaios, os teores do C-BMS, por titulometria, foram superiores ($p < 0,05$) aos valores obtidos por espectrofotometria, independentemente do manejo avaliado. Em ambos os ensaios, verificou-se uma correlação linear positiva entre os métodos avaliados (Figuras 1 e 2). De acordo com Ohlweiler (1982), a metodologia mais exata é aquela em que a equação linear obtida entre os elementos quantificados apresentem um intercepto igual a zero (0) e declividade igual a uma unidade (1,0). Analisando os resultados obtidos, observa-se que a equação obtida através da metodologia testada, apresentou intercepto e declividade com elevada significância ($r^2 = 0,947$ e $r^2 = 0,939$) (Figuras 1 e 2 respectivamente). Deve-se salientar que valores mais elevados dos teores de biomassa microbiana implicam em maior imobilização temporária de nutrientes,

consequentemente, em menores perdas de nutrientes no sistema solo-planta (MERCANTE et al., 2004; ROSCOE et al., 2006).

Os valores do C-BMS variaram no primeiro ensaio em um Latossolo Vermelho Distroférico típico, de textura muito argilosa (Tabela 2) de 158 a 637 $\mu\text{g C g}^{-1}$ solo seco; considerando a média verificada nos métodos de titulometria e espectrofotometria, o sistema plantio direto proporcionou valores mais elevados de C-BMS em relação ao manejo sob plantio convencional (Tabela 2). Resultado similar foi observado por Balota et al. (1998), em um Latossolo Roxo, ao avaliar a BMS submetida a sucessões de culturas trigo/soja e trigo/milho, preparado pelo sistema convencional e em plantio direto. No sistema plantio direto, os macroagregados do solo são mantidos, preservando o nicho principal de atividade dos microrganismos (MENDES et al., 2003).

Tabela 3. Carbono da biomassa microbiana do solo(C-BMS), sob sistema convencional (SC), sistema plantio direto (PD) e vegetação nativa (Mata), avaliado pelos métodos de titulometria e espectrofotometria.

C-BMS ($\mu\text{g C g}^{-1}$ solo seco)				
Sistemas	Espectrofotometria		Titulometria	
PD	252	abB	425	bA
SC	158	bB	360	bA
MATA	369	aB	637	aA

Valores seguidos de letras minúsculas nas colunas indicam contraste de média entre os manejos do solo, e letras maiúscula entre as linha comparam os métodos de espectrofotometria e titulometria, em cada sistema. Pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

Os valores do C-BMS encontrados no segundo ensaio, em duas fitofisionomias naturais distintas em um Latossolo Vermelho, com relevo plano. (Tabela 3) variou de 218 a 761 $\mu\text{g C g}^{-1}$ solo seco. De modo geral, verificou-se que o sistema sob Floresta Semidecidual amostrado na Embrapa (MEMB) apresentou valores superiores ($p < 0,05$) aos demais sistemas avaliados. Segundo o levantamento realizado em diferentes biomas nativos (ROSCOE et al., 2006), o sistema sob Floresta Semidecidual propicia os valores mais elevados em solos brasileiros. De acordo com Borges et al. (2009), esses valores podem ser decorrentes da formação mais densa e da presença de um maior

extrato arbóreo na vegetação nativa encontrada neste sistema. A ausência do preparo do solo, a maior diversidade florística, a manutenção de hifas fúngicas e o acúmulo de serapilheira na superfície do solo contribuem para condições mais favoráveis do sistema sob Floresta Semidecidual, em relação as áreas manejadas com culturas agrícolas (MERCANTE et al., 2008).

Os menores valores de C-BMS foram verificados no método de titulometria, sob o sistema Cerrado, coletado em Dourados-Itahum (CEIT) (Tabela 3). Valores semelhantes foram observados por Oliveira et al. (2001), para uma mesma região do Bioma Cerrado, verificando-se uma redução da BMS na transição de uma mata de galeria, para uma vegetação de Cerrado. De acordo com Roscoe et al. (2006), a principal causa de baixos valores de C-BMS para a vegetação natural de Cerrado se deve aos pequenos teores de carbono orgânico total verificados neste ecossistema. O presente resultado demonstra ser uma correlação robusta para solos brasileiros, uma vez que as determinações foram feitas em solos com textura, vegetações e sistemas de uso variados.

Tabela 4. Carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS), sob cerrado (CEIT: cerrado Itahum; CEMB: cerrado Embrapa) e Floresta Semidecidual (MITA: mata Itahum; MEMB: mata Embrapa), avaliado pelo método de titulometria e espectrofotometria.

Sistemas	C-BMS ($\mu\text{g C g}^{-1}$ solo seco)	
	Espectrofotometria	Titulometria
MITA	482 bA	628 aA
MEMB	693 aA	761 aA
CEIT	548 abA	314 bB
CEMB	247 cA	349 bA

Valores seguidos de letras minúsculas na coluna indicam contraste de média entre os sistemas naturais, e maiúsculas nas linhas comparam os métodos de espectrofotometria e titulometria, em cada sistema. Pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

Os resultados encontrados pelo método de espectrofotometria demonstra que este método é uma importante ferramenta para a avaliação do C-MBS, visto que, para a determinação do carbono em extrato de solo, no método de titrimetria as amostras são tituladas por técnicos podendo levar a uma ampla variabilidade de resultados entre os

operadores durante a titulação das amostras (DUDA et al., 2005). Na ausência de um analisador de carbono, segundo Reis Junior e Mendes (2007), os procedimentos analíticos para determinação do carbono das amostras são mais complexos e trabalhosos, e envolvem a utilização de produtos tóxicos como o dicromato de potássio.

A preparação prévia da solução de trabalho em volumes significativos (2 litros) pode tornar o processo de quantificação do carbono pelo método de espectrofotometria mais ágil. Em média, para a quantificação do C-BMS, 10 amostras, subdivididas em triplicatas, totalizando 30 subamostras são analisadas pelo método de titulometria, levando em média 8 horas de trabalho; pelo método de espectrofotometria, em média, 20 amostras, subdivididas em triplicatas totalizando 60 subamostras podem ser realizadas por dia, levando, em média 5 horas de trabalho. Assim, pode-se considerar que o método de espectrofotometria envolve menos etapas operacionais e a eliminação da utilização do dicromato de potássio nos procedimentos analíticos, sendo substituído pelo permanganato de potássio consequentemente, geram menos resíduos tóxicos. Knupp e Ferreira (2011) afirmam que o espectrofotômetro pode ser uma ferramenta eficiente para a avaliação do C-BMS, com potencial para substituir o método da titrimetria.

Os valores obtidos no presente estudo entre os métodos de espectrofotometria e titulometria mostram a possibilidade de uma redução do uso de 100% do dicromato de potássio e do ácido fosfórico para a nova formulação da solução digestora, gerando uma economia em média de R\$ 172,00 reais a cada 200 amostras, sendo substituído pelo permanganato de potássio, que, em média, um frasco de 500g é vendido por R\$ 48,00, podendo determinar 315 amostras. Para o ácido sulfúrico, verificou-se uma redução de 75% na sua utilização, significando uma redução no volume final de resíduos gerados. Esta redução é significativa para a saúde humana, tendo em vista que o técnico que irá manipular as amostras não ficará exposto ao dicromato de potássio, que é potencialmente tóxico e carcinogênico (STOUT et al., 2008).

Na comparação entre os métodos, espectrofotométrico e titrimétrico para a determinação do carbono da biomassa microbiana do solo, segundo Knupp e Ferreira (2011), utilizando solução de biftalato de potássio, pode-se verificar uma redução de 42% na concentração de dicromato de potássio para nova formulação da solução

digestora e de cerca de 20% no tempo de execução da análise, quando se utilizou o método de espectrofotometria. Neste sentido, o método da espectrofotometria mostra-se como uma ferramenta eficiente para a avaliação do C-BMS e, conseqüentemente, uma alternativa para a redução e a geração de resíduos no processo analítico.

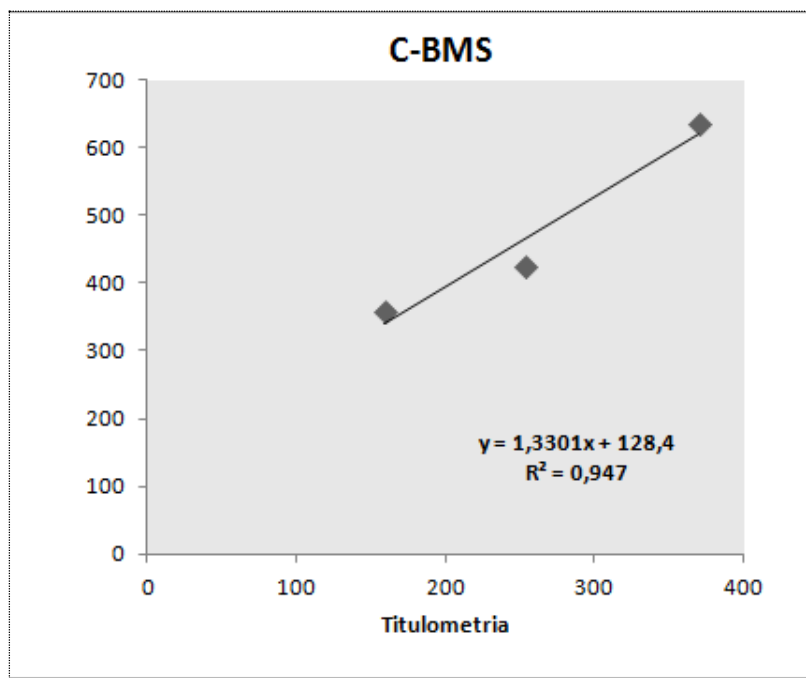


Figura 3: Regressão linear entre os métodos por espectrofotometria e titulometria na análise do carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS) avaliada em diferentes sistemas de manejo: sistema convencional, sistema plantio direto e vegetação nativa.

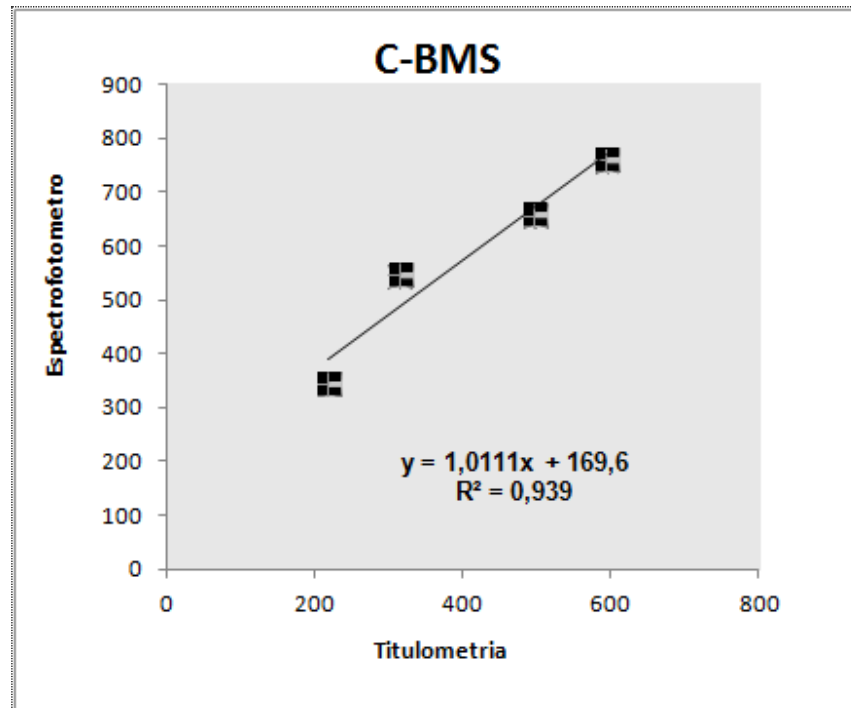


Figura 4: Regressão linear entre os métodos por espectrofotometria e titulometria na análise do carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS), avaliadas em diferentes sistemas: cerrado (CEIT: cerrado Itahum; CEMB: cerrado Embrapa) e Floresta Semidecidual (MITA: mata Itahum; MEMB: mata Embrapa).

Considerações finais

1- A técnica da espectrofotometria molecular constitui-se em uma ferramenta eficiente para a determinação do carbono da biomassa microbiana do solo, possibilitando a substituição do método titrimétrico.

2 - A adoção do método de espectrofotometria reduz significativamente o custo das análises, comparado ao método titulométrico, e possibilita a eliminação completa da utilização do dicromato de potássio, bem como o manuseio do técnico e a geração de resíduos tóxicos ao ambiente.

Referências

- ARRUDA, L.; DANIEL, O. Florística e diversidade em um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual Aluvial em Dourados, MS. **Floresta**, v. 37, n. 2, p.189-199, 2007.
- BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, n. 4, p. 641-649, 1998.
- BORGES, C. D.; MERCANTE, F. M.; SALTON, J.C.; CARVALHO, E. M. Biomassa microbiana do solo em fitofisionomias no sul de Mato Grosso do Sul. **Ensaio e Ciência**, v. 13, p. 51-62, 2009.
- BRANDÃO-JUNIOR, O.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; ESPÍNDOLA, C. R. Comparação entre os métodos de fumigação-extração e fumigação-incubação para a determinação do carbono da biomassa microbiana em um Latossolo Vermelho distroférico eutrófico do norte do Paraná. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 1911-1919, 2008.
- DORAN, J. W. Soil microbial and biochemical changes associated tillage. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, p. 764-771, 1980.
- DUDA, G. P.; MONTEIRO, M. T.; SALVIANO, A. M.; GUERRA, J. G. M. Comparação entre métodos colorimétrico e titrimétrico para determinação de carbono microbiano. **Caatinga**, v. 18, n.1, p. 52-57, 2005.
- FALEIRO, F. G.; de ANDRADE, S. R. M. ; REIS JUNIOR, F. B. **Biotecnologia estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina: Embrapa Cerrados, v. 1. p. 730, 2011.
- FRANCHINI, J. C.; CRISPINO, C. C.; SOUZA, R.A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various tillage and crop-rotation systems in Southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v. 92, p.18-29, 2007.
- GOMES, A. A.; MUSSURY, R. M.; SCALON, S. P. Q.; WATTHIER, F.; CUNHA, K. A. A.; SCALON FILHO, H. Avaliação do impacto da fragmentação de floresta nativas

sobre a mesofauna edáfica na região de Dourados-MS. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n.3, p. 612-618, 2007.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R. A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v. 42, p. 288-296, 2009.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. M. Microbial biomass in soil. Measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. M. (Ed.). **Soil biochemistry**, v. 5, p. 415-471, 1981.

JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 8, n. 3, p. 209-213, 1976.

KASCHUK, G.; ALBERTO, 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. 42, p. 1-13, 2010.

KNUPP, A. M.; FERREIRA, E. P. B. Eficiência da quantificação do carbono da biomassa microbiana por espectrofotometria comparada ao método titrimétrico. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 6, n. 4, p. 588-595, 2011.

KOTÁS, J.; STASICKA, Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. **Environmental Pollution**, v. 107, n. 3, p. 263-283, 2000.

MARQUES, G. S.; MONTEIRO, R. P. M.; leão, W. de F.; LYRA, M. A. M.; PEIXOTO, M. S.; ROLIM-NETO, P.; XAVIER H. S.; SOARES, L. A. de L. Avaliação de procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em folhas de *Bauhinia forficata* Link. **Química Nova [online]**, vol.35, n.3, p. 517-522, 2012.

MENDES, I. C., SOUZA, L. V.; RESCK, D. V. S.; GOMES, A. C. Propriedades biológicas em agregados de um Latossolo Vermelho-Escuro sob plantio convencional e

direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 27, n. 3, p. 435-443, 2003.

MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B dos; HUNGRIA, M.; FERNANDES, M. F; CHAER, G. M; MERCANTE, F. M; Zilli, J. E. Microbiologia do solo e sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: Fábio Gelape Faleiro; Solange Rocha Monteiro de Andrade; Fábio Bueno dos Reis Junior. (Org.). **Biotecnologia estado da arte e aplicações na agropecuária**. 1ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011. v. 1, p. 219-244.

MERCANTE, F. M; FABRICIO, A. C.; MACHADO, L. A. Z; SILVA, W. M. **Parâmetros microbiológicos como indicadores de qualidade do solo sob sistema integração de produção agropecuária**. Dourados, Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 27p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 20).

MERCANTE, F. M; SILVA, R. F; FRANCELINO, C. S. F; CARVALHEIRO, J. C. T; OTSUBO, A. A. Biomassa microbiana em um Argissolo Vermelho, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. **Acta Scientiarum: agronomy**, v. 30, n. 4, p. 479-485, 2008.

NOGUEIRA, M. A.; ALBINO, U. B.; BRANDÃO-JÚNIOR, O.; BRAUN, G.; CRUZ, M. F.; DIAS, B. A.; DUARTE, R. T. D.; GLOPPO, N. M. R.; MENNA, P.; ORLANDI, J. M.; RAIMAM, M. P.; RAMPAZO, L. G. L.; SANTOS, M. A.; SILVA, M. E. Z.; VIEIRA, F. P.; TOREZAN, J. M. D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, G. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 115, p. 237-247, 2006.

OHLWEILER, O. A. **Química analítica quantitativa**. 3 ed., Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., p. 273. 1982.

OLIVEIRA, J. R. A.; MENDES, I. C.; VIVALDI, L. Biomassa microbiana de carbono em solo de cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo: avaliação dos métodos fumigação-incubação e fumigação-extração. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 25, p. 863-871, 2001.

PEREIRA, Z. V.; SCIAMARELLI, A.; GOMES, C. F.; LOBTCHENKO, G.; GOME, M. E. S. Estrutura fitossociológica do estrato arbustivo-arbóreo de um fragmento de Floresta Estacional Semidecídua, no Município de Dourados, MS. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 72-74, jul. 2007.

ROSCOE, R.; MERCANTE, F. M.; MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B.; SANTOS, J. C. F.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana do solo: fração mais ativa da matéria orgânica. In: Renato Roscoe; Fábio Martins Mercante; Júlio Cesar Salton. (Org.). **Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionistas: modelagem matemática e métodos auxiliares**. 1ed. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006, v. p. 163-198.

SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Principal components analysis in the software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE. **Proceedings**. Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

STOUT, M. D.; HERBERT, R. A.; KISSLING, G. E.; COLLINS, B. J.; TRAVLOS, G. S.; WITT, K. L.; MELNICK, R. L.; ABDO, K. M.; MALARKEY, D. E.; HOOTH, M. J. Hexavalent chromium is carcinogenic to F344/N rats and B6C3F1 mice after chronic of oral exposure. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, n. 5, p. 719-722, 2008.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Microorganismos e processos microbiológicos como indicadores de qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V. H. et al. (Ed.). Tópicos em ciência do solo. **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v. 2, p. 195-276, 2002.

VANCE, E. D., BROOKES, O. C.; JENKINSON, D. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, n. 6, p. 703-707, 1987.

WARDLE, D.A.; CHANI, A. Why is the strength of relationships between pairs of methods for estimating soil microbial biomass often so varial. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, p. 821-828, 1995.