

## ATRIBUTOS BIOLÓGICOS DO SOLO EM SISTEMA INTEGRADO DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA

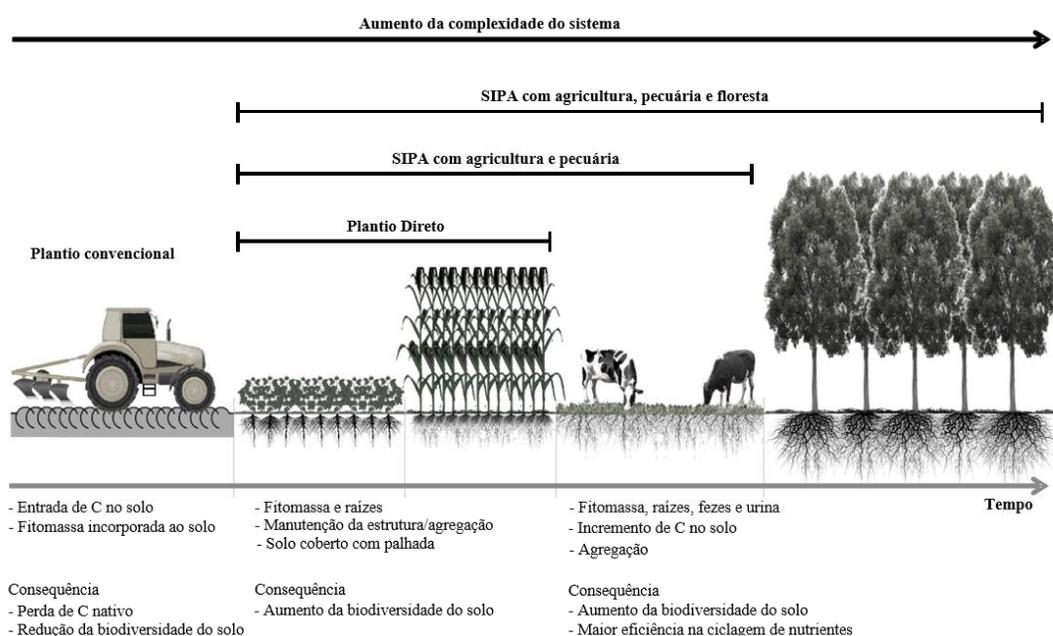
*Éder Rodrigues Batista, Carin Sgobi Zanchi, Dorotéia Alves Ferreira, Flávia Louzeiro de Aguiar Santiago, Flávio Araújo Pinto, Jessé Valentim Dos Santos, Helder Barbosa Paulino, Marco Aurélio Carbone Carneiro*

### INTRODUÇÃO

O crescimento populacional aumenta a demanda por produtos de origem agrícola, gerando pressões nos agroecossistemas, os quais se não forem bem manejados poderão sofrer mudanças que levam a perda de qualidade do solo. Essas mudanças envolvem a redução do carbono orgânico e de nutrientes, maior dependência de fertilizantes e, conseqüentemente, maior exploração dos recursos naturais não renováveis (Arshad & Martin, 2002; Fonseca et al., 2007). Em agroecossistemas desequilibrados, com entrada excessiva de insumos, ausência de rotação ou integração de culturas, e ainda baixa entrada de fontes orgânicas variadas, observa-se um decréscimo em biodiversidade do solo, o que reflete na sanidade, crescimento e produtividade das culturas (Rodrigues et al., 2013).

Com a conversão das áreas nativas para ambientes agrícolas que não apresentam manejos que visam à diversificação de plantas e, conseqüentemente, a diversificação do microbioma dos solos, observa-se o comprometimento de parâmetros ecológicos e biológicos importantes para o sistema. Estes parâmetros relacionam-se ao equilíbrio nutricional das plantas e quanto à proteção destas, principalmente no que diz respeito a patógenos do sistema radicular (Mendes et al., 2011; Raaijmakers & Mazzola, 2016).

Os sistemas integrados de produção agropecuária (SIPA) apresentam inúmeros benefícios, com destaque para a aprimorada e eficiente ciclagem de nutrientes no solo, com conseqüente melhoria da sustentabilidade do agroecossistema (Salton et al., 2014). Além disso, a integração de diferentes famílias botânicas com o componente animal torna possível a reabilitação e reconstrução do microbioma dos solos (Paula et al., 2014). Neste sentido, denota-se a importância destes sistemas nos ambientes de cultivo em virtude de seu maior nível de complexidade (Lemaire et al., 2014), conforme demonstrado na Figura 1, o que promove o aumento da biodiversidade do solo, funcionalidade e, conseqüentemente, da qualidade do solo.



**Figura 1.** Complexidade dos sistemas de produção e suas contribuições para o ecossistema.

Doran & Parkin (1994) definem qualidade do solo como a capacidade deste de funcionar dentro dos limites do ecossistema e do uso da terra para sustentar a produtividade agrícola, manter a qualidade ambiental e promover a saúde de plantas e animais, incluindo a humana. Esse conceito pode ainda ser complementado enfatizando a relação direta com fatores externos, como as práticas de uso e manejo, interações com o ecossistema e com prioridades socioeconômicas.

Quaisquer mudanças na qualidade do solo podem ser avaliadas por meio de atributos mensuráveis (bioindicadores), onde comparações com valores de referência podem ser realizadas ao longo do tempo e para finalidades específicas de um dado ecossistema (Melo Filho et al., 2007). Deste modo, a utilização de indicadores de qualidade é importante para o monitoramento dessas mudanças, e pode auxiliar agências governamentais na elaboração e avaliação de políticas de uso e manejo da terra (Doran & Parkin, 1994; Karlen et al., 1997).

Os atributos biológicos e bioquímicos do solo são os mais sensíveis e exibem rápida resposta às mudanças no ambiente edáfico quando comparados aos atributos químicos e físicos (Doran & Zeiss, 2000; Cardoso et al., 2013), o que pode fornecer informações importante para tomada de decisão sobre o manejo e uso do solo. Estes apresentam extensa funcionalidade no solo, contribuindo para a formação e estabilização de agregados (Jastrow & Miller, 1991; Siqueira et al., 1994, Ferreira et al., 2012), decomposição e mineralização da matéria orgânica, com consequente ciclagem de nutrientes no sistema solo-planta (Miransari, 2013), fixação biológica de nitrogênio (FBN) (Baldani et al., 1997; Raymond et al., 2004), favorecendo o crescimento e o desenvolvimento vegetal, transformações inorgânicas (amonificação, nitrificação, desnitrificação, oxidação de enxofre), estímulo à produção de hormônios vegetais, atividades antagonísticas entre outras (Moreira & Siqueira, 2006; Kholkhar et al., 2011).

Entre os principais indicadores microbiológicos e bioquímicos, estão: os grupos microbianos funcionais (amonificadores, celulolíticos, desnitrificadores, fixadores de  $N_2$ , nitrificadores, proteolíticos e solubilizadores de fosfato), o C e os nutrientes contidos na biomassa microbiana do solo, a taxa respiratória do solo (evolução de  $CO_2$ ) e a atividade de enzimas-chave envolvidas na ciclagem de C e nutrientes (arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase, urease e a hidrólise do diacetato de fluoresceína).

Esses bioindicadores têm representado uma ótima ferramenta de avaliação e monitoramento da qualidade do solo com eficiência submetida ao SIPA, considerando como diferentes manejos afetam os atributos biológicos e bioquímicos do solo, como a rotação de culturas (Acosta-Martínez et al., 2004), a disponibilidade de água e de outros recursos naturais (Allen et al., 2007; Acosta-Martínez et al., 2010), a intensidade de pastejo (Souza et al., 2008; 2010; Chávez et al., 2011; Silva et al., 2015) e a diversidade vegetal associada à inserção do componente animal (Martins et al., 2017).

Portanto, avaliar a qualidade do solo por meio de indicadores biológicos e bioquímicos do solo pode auxiliar a tomada de decisões quanto à implantação, condução e manejo do sistema. O monitoramento da qualidade do solo permite assim a manutenção de uma maior biodiversidade e torna possível o restabelecimento das funções biológicas no sistema solo. Este capítulo apresenta a importância dos indicadores biológicos e bioquímicos do solo e a eficácia no monitoramento da qualidade do solo em SIPA.

## **IMPORTÂNCIA DOS ATRIBUTOS BIOLÓGICOS DO SOLO PARA A SUSTENTABILIDADE DOS AGROECOSSISTEMAS**

O solo é um sistema complexo, dinâmico e multifuncional que abriga uma enorme diversidade de comunidades com milhões de espécies, desde microrganismos (arqueias, bactérias e fungos) até organismos maiores como ácaros, formigas, minhocas, nematoides, protozoários dentre outros (Moreira & Siqueira, 2006; Bardgett & Van Der Putten, 2014). Por meio desses organismos, o solo fornece bens ecossistêmicos importantes para o bem estar humano, como a produção de alimentos e fibra, e também serviços reguladores essenciais para a qualidade do solo e a saúde humana, como o estoque e a transformação do C, a ciclagem de nutrientes e a regulação biológica de pragas e doenças de animais e plantas (Kibblewhite et al., 2008; Wall et al., 2015). Praticamente todos os principais grupos taxonômicos podem ser encontrados no solo, e sua abundância, diversidade e importância são apresentadas na Tabela 1.

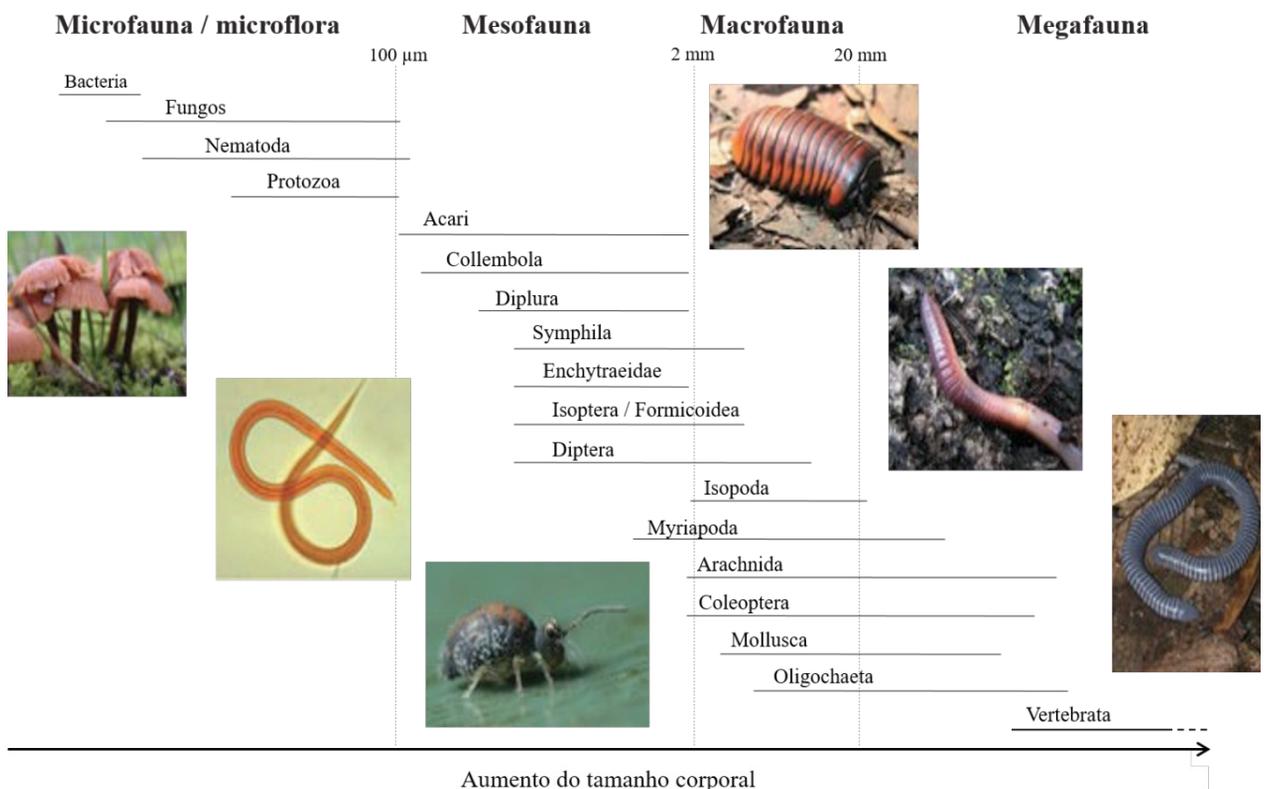
**Tabela 1.** Diversidade, abundância e importância dos principais táxons do solo.

Táxon	Diversidade <sup>a</sup>	Abundância	Importância
Procariotos	100-9.000 cm <sup>2</sup>	4-20 x 10 <sup>9</sup>	Transformação, mineralização, solubilização, fotossíntese, fixação de N <sub>2</sub> , patógenos e simbiontes de plantas
Fungos	200-235 g <sup>-1</sup>	100 mg <sup>-1</sup>	Decomposição, patógenos, biocontrole e simbiontes
Protistas (sequências)	600-4800 g <sup>-1</sup>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>7</sup> m <sup>-2</sup>	Microrreguladores
Nematoides (gêneros)	10-100 m <sup>-2</sup>	2-90 x 10 <sup>5</sup> m <sup>-2</sup>	Microrreguladores
Equiterídeos	1-15 ha <sup>-1</sup>	1,2 x 10 <sup>4</sup> -3,1 x 10 <sup>5</sup> m <sup>-2</sup>	Transformação de elementos
Colêmbolos	20 m <sup>-2</sup>	1-5 x 10 <sup>4</sup> m <sup>-2</sup>	Transformação e microrregulação
Ácaros	100-150 m <sup>-2</sup>	1-10 x 10 <sup>4</sup> m <sup>-2</sup>	Fragmentação, microrregulação
Isopoda	10-100 m <sup>-2</sup>	10 m <sup>-2</sup>	Transformação de elementos
Diplopoda	10-2.500 m <sup>-2</sup>	110 m <sup>-2</sup>	Transformação de elementos
Minhocas	10-15 ha <sup>-1</sup>	300 m <sup>-2</sup>	Bioturbação, fragmentação e humificação

Adaptado de Bardgett & Van Der Putten (2014).

<sup>a</sup> - estimativa por quantidade de solo ou área;

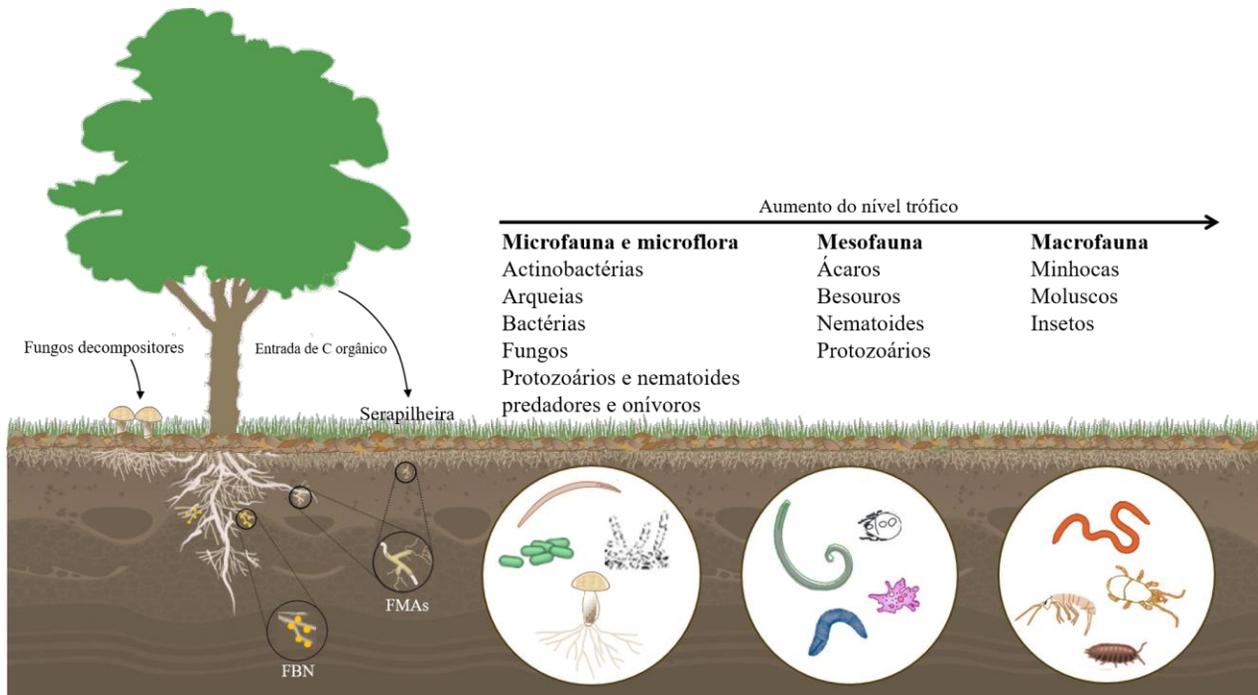
Os organismos do solo são classificados de acordo com seu tamanho em: a) macrofauna (> 2 mm; inclui minhocas, moluscos e insetos); b) mesofauna (> 100 µm e < 2 mm; inclui ácaros, besouros, colêmbolos, miriápodes e rotíferos); c) microfauna (< 100 µm; compreende protozoários e nematóides predadores e onívoros); e d) microflora (microrganismos; abrange arqueias, bactérias e fungos) (Swift et al., 1979). A classificação dos organismos do solo com base em seu diâmetro corporal é ilustrada na Figura 2.



**Figura 2.** Principais grupos taxonômicos do solo em função do seu tamanho corporal. Adaptado de Swift et al. (1979).

Os diferentes tamanhos dos organismos edáficos determinam a magnitude com a qual suas atividades influenciam os atributos do solo e do ecossistema, bem como o grau com que estes respondem ao manejo agrícola.

Neste sentido, Lavelle et al. (1995) destacam três principais grupos funcionais que são encontrados no solo, sendo: (1) transformadores de serapilheira; (2) engenheiros do ecossistema; e (3) microrreguladores das populações bióticas do solo. Esses organismos formam uma complexa cadeia trófica no solo que envolve diferentes tipos de interação biológicas, e são essenciais para a sustentabilidade dos ecossistemas naturais e dos agroecossistemas (Figura 3). Quanto maior a complexidade das relações tróficas maior a resiliência do solo.



**Figura 3.** Cadeia trófica enfatizando os principais grupos funcionais do ecossistema solo e seus representantes. FMAs: Fungos Micorrízicos Arbusculares; FBN: Fixação Biológica de Nitrogênio.

Os transformadores de serapilheira compreendem principalmente os organismos da macrofauna, mas também alguns organismos da meso e microfauna. Esses organismos fragmentam os resíduos orgânicos depositados na superfície do solo e aumentam sua superfície específica, facilitando o ataque microbiano (Hendrix et al., 1986). Além da fragmentação, também transportam e redistribuem esses resíduos tanto horizontal como verticalmente no solo, o que promove a incorporação de resíduos orgânicos, aumento do estoque de C e estimula a atividade microbiana (Anderson, 1988; Bardgett & Chan, 1999).

Os engenheiros do ecossistema compreendem organismos essencialmente da macrofauna que direta ou indiretamente influenciam as características físicas do solo. Esses organismos movimentam porções de solo e modificam sua estrutura ao construírem bioporos e galerias, aumentando o espaço poroso e permitindo maior infiltração de água e a entrada de ar no solo (Lee & Foster, 1991). Esse grupo também é responsável por se alimentar de resíduos orgânicos e material mineral, produzindo *pellets* organominerais que resultam na formação de agregados estáveis a longo prazo (Blanchart et al., 1993).

A mesofauna inclui organismos que habitam os espaços porosos do solo e, assim como a macrofauna, também realizam a fragmentação dos resíduos orgânicos (Van Vliet et al., 1993). Além disso, esse grupo age como microrreguladores de outras populações bióticas do solo e acima dele por influenciar as comunidades de plantas por meio da herbivoria e regular as populações da microfauna e de microrganismos (Crotty et al., 2013; Geisen et al., 2015).

A microfauna é formada por organismos essencialmente aquáticos que vivem em filmes d'água na superfície das partículas de solo e atuam como microrreguladores, preferencialmente de metabólitos microbianos, atuando no equilíbrio biológico do solo (Ingham et al., 1985; Schorpp & Schrader, 2017).

Os microrganismos do solo formam o grupo mais abundante, diversos e funcionalmente importante do solo, pois realizam diversos processos bioquímicos e ecológicos do solo essenciais para o funcionamento dos ecossistemas terrestres (Shoemaker et al., 2017). A participação dos microrganismos em diversos processos edáficos e funções do ecossistema possibilita sua utilização no monitoramento da qualidade do solo, o que permite a avaliação da sustentabilidade dos agroecossistemas a longo prazo.

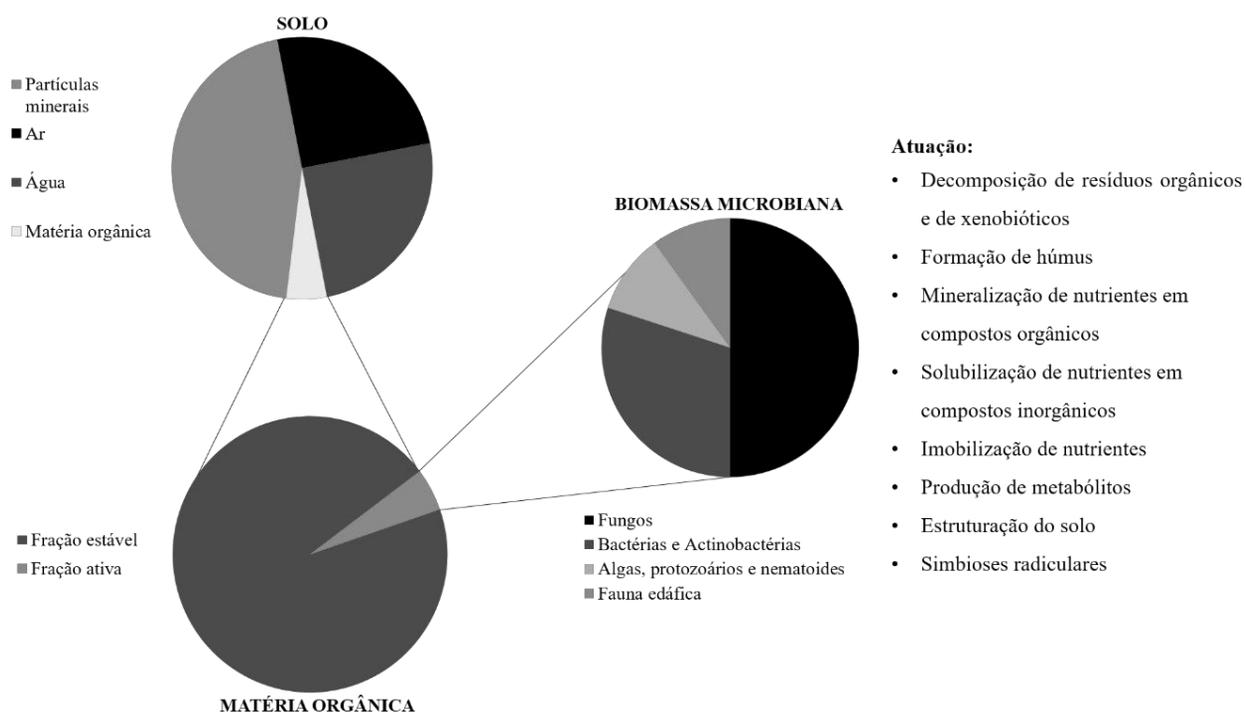
Dentre as principais avaliações envolvendo a fração microbiana do solo estão aquelas referentes à ciclagem rápida de C, nutrientes, biomassa microbiana e sua atividade do solo (respiração microbiana e atividade enzimática do solo). Além dessas, os métodos moleculares têm sido frequentemente empregados para avaliar a qualidade do solo, visando elucidar como a diversidade microbiana é afetada pelo manejo agrícola (Rodrigues et al., 2013). A Tabela 2 apresenta os principais indicadores microbiológicos utilizados no monitoramento da qualidade do solo.

**Tabela 2.** Indicadores microbiológicos e seu significado ecológico para a qualidade do solo.

Indicador	Reflete	Referência
Biomassa microbiana do solo	Ciclagem de carbono e nutrientes pela fração viva da matéria orgânica do solo	Vance et al. (1987)
Respiração do solo	Atividade microbiana no solo por meio da evolução de CO <sub>2</sub>	Alef (1995)
β-glicosidase	Ciclo do carbono	Eivazi & Tabatabai (1988)
Urease	Ciclo do nitrogênio	Tabatabai & Bremner (1972)
Fosfatase	Ciclo do fósforo	Dick et al. (1996)
Arilsulfatase	Ciclo do enxofre	Tabatabai & Bremner (1970)
Hidrólise do diacetato de fluoresceína	Potencial enzimático da biomassa microbiana do solo	Schnurer & Rosswall (1982)
Quociente metabólico ( $qCO_2$ )	Eficiência de uso do carbono orgânico pela comunidade microbiana do solo	Anderson & Domsch (1993)
Quociente microbiano ( $qMIC$ )	Mudanças na relação de carbono orgânico entre a biomassa microbiana e a matéria orgânica do solo	Sparling (1992)

### Biomassa microbiana do solo

O solo contém três fases em sua composição: sólida (minerais e orgânicos), líquida (água) e gasosa (ar) conforme mostra a figura 4. A fração orgânica, comumente, representa de 1 a 5% do volume total do solo e nesta fração encontra-se a parte viva, denominada biomassa microbiana do solo (Sparling, 1992).



**Figura 4.** Composição da matéria orgânica, fração ativa e papel da biomassa microbiana do solo.

A biomassa microbiana do solo é definida como a porção ativa da matéria orgânica e inclui organismos com volume corporal inferior a  $5 \mu\text{m}^3$  como algas, arqueias, bactérias, fungos e alguns membros da microfauna, como os protozoários (Jenkinson & Ladd, 1981). As bactérias e os fungos são os mais abundantes e representam entre 93 e 97% da biomassa microbiana, enquanto os protistas compreendem apenas 1 a 3%, variando em função da época de avaliação e do manejo do solo (Beare, 1997).

A biomassa microbiana representa 2 a 5% da porção orgânica do solo, embora desempenhe funções chave para este ecossistema (Figura 4). Como seu tempo de permanência no solo é pequeno em relação aos outros componentes orgânicos, em média, a cada 3 meses a biomassa é renovada enquanto que outros componentes orgânicos permanecem por um período maior (Moreira & Siqueira, 2006).

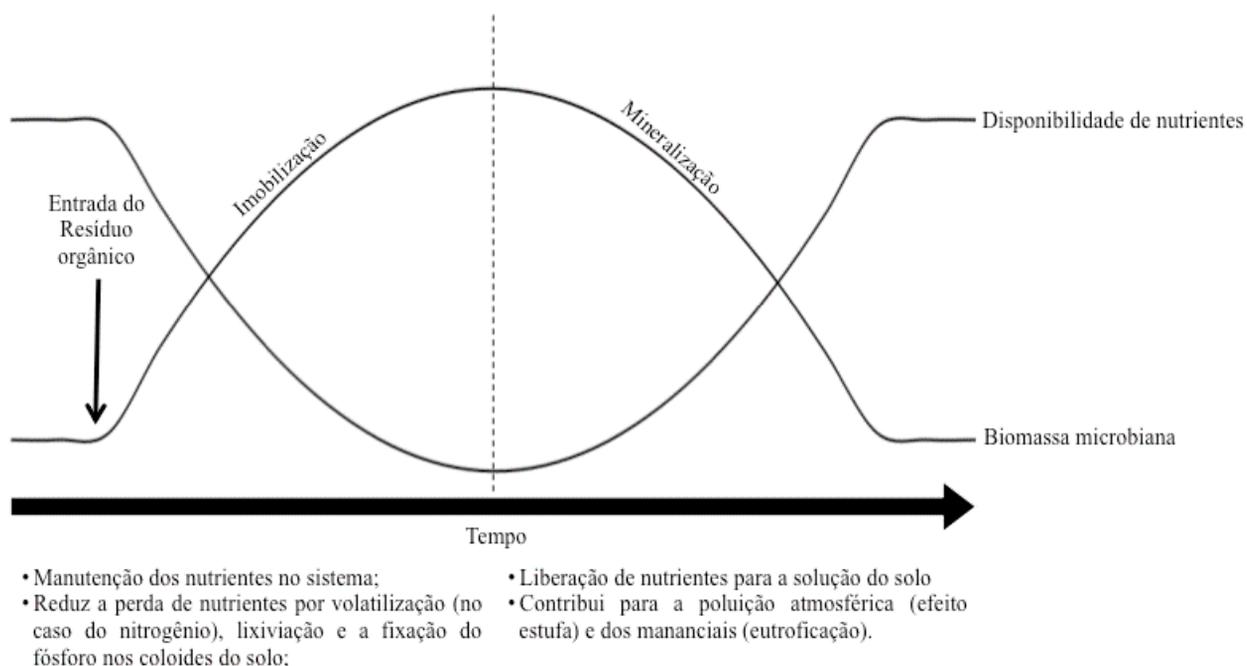
Por se tratar de um componente ativo, a biomassa microbiana atua em processos como as transformações da matéria orgânica, contribuindo para a fertilidade dos solos por exercer influência como: fonte de C e nutrientes, imobilizando cerca de 1 a 5% de C, 2 a 5% de nitrogênio (N), 2 a 20% de fósforo (P) e de 2 a 3% de enxofre (S), e dreno, mineralizando esses nutrientes após a morte celular, que ficam disponíveis para as plantas e outros microrganismos (Singh et al., 1989; Srivastava & Singh, 1991; Kaiser et al., 1995). A atuação da biomassa microbiana se estende ainda a processos como a degradação de xenobióticos, formação de húmus, estruturação e agregação do solo e na regulação do fluxo de matéria e energia nos ecossistemas terrestres (Balota et al., 1998; Haney et al., 2002; Gama-Rodrigues et al., 2008).

Estimar a biomassa microbiana permite investigar o potencial da microbiota do solo, estabelecer relações com as quantidades dos nutrientes imobilizados na biomassa microbiana do solo e associar essas estimativas à produtividade das culturas no campo (Gama-Rodrigues & Gama-Rodrigues, 2008). A microbiota do solo é um indicador sensível de alterações nas condições edáficas, refletindo as menores mudanças na qualidade do solo quando submetido a intervenções antrópicas, comparada a medidas como o C orgânico e o N total (Paul, 1984; Powlson et al., 1987), pois esta apresenta tempo de renovação relativamente rápido, com estimativas de 18-110 dias para solos agrícolas (Cheng, 2009) e de 197-322 dias para solos de pastagem (Spohn et al., 2016).

Estudos encontraram correlação positiva entre as quantidades de C e de nutrientes imobilizados na biomassa microbiana e suas quantidades na fração mineralizável da matéria orgânica do solo (Anderson & Domsch, 1989; Sparling, 1992). Neste sentido, o aporte constante de resíduos orgânicos advindos das culturas ou rotação é de fundamental importância, pois os resíduos orgânicos servem como uma fonte de energia e nutrientes e são essenciais para manutenção da biomassa e processos microbianos do solo, bem como para o crescimento vegetal (Fontaine et al., 2007; Kirkby et al., 2011; Khan et al., 2016).

O carbono e nutrientes imobilizados na biomassa microbiana nos diferentes sistemas de manejo, como plantio direto, sucessão de culturas ou sistemas integrados, é de grande importância, pois a biomassa microbiana pode ser alterada com facilidade por quaisquer mudanças que ocorrem no solo, e ser correlacionada com a produtividade de grãos (Araújo et al., 2009; Carneiro et al., 2009; Silva et al., 2010; Assis et al., 2017) como demonstrado na Figura 4. Por isso, quantificar o teor de P (Brookes et al., 1982), N (Brookes et al., 1985) e C (Vance et al., 1987) na biomassa microbiana possibilita monitorar a dinâmica de nutrientes entre as frações lábil e não lábil da matéria orgânica do solo. Além disso, a eficiência de imobilização destes elementos pelos microrganismos pode ser verificada a partir da relação C: nutrientes da biomassa microbiana. Esta medida funciona como um indicador da ciclagem biogeoquímica de nutrientes e pode sugerir a qualidade da matéria orgânica do solo (Cleveland & Liptzin, 2007).

Embora estas relações sejam constantes na matéria orgânica do solo, na biomassa microbiana são observadas variações expressivas, refletindo mudanças na demanda por nutrientes pelos microrganismos (Anderson & Domsch, 1980). A principal relação estudada é a relação C:N. Quando há elevada disponibilidade de carbono e baixa disponibilidade de N, a relação C:N aumenta, resultando na atenuação do processo de decomposição de resíduos, o que faz com que se acumulem no solo e haja menor contribuição da biomassa microbiana para o conteúdo de C orgânico total do solo (Anderson & Domsch, 1980; Joergensen et al., 1995a, b). Incrementos nos teores de C e N microbiano são frequentemente observados em sistemas que empregam práticas de manejo sustentável, como o plantio direto, onde a estrutura do solo é preservada, os resíduos orgânicos são decompostos e parte destes elementos é liberada para o solo (Figura 5), enquanto outra parte fica imobilizada na biomassa microbiana (Gijsman et al., 1997; Xavier et al., 2006; Souza et al., 2010).



**Figura 5.** Processo de imobilização e mineralização microbiana de compostos orgânicos e sua importância no solo.

### Atividade microbiana do solo

Solos biologicamente ativos são mais produtivos em virtude da contribuição dos microrganismos para os processos ecossistêmicos. A atividade microbiana do solo, representada aqui pela respiração microbiana e atividade enzimática, é um bom indicador da ciclagem de matéria orgânica, uma vez que pelo menos 90-95% da energia flui através dos microorganismos durante o processo de decomposição, o que os torna centrais na ciclagem global de C e nutrientes (Rosswall, 1976; Schnurer & Rosswall, 1982). Em adição, medir a atividade microbiana do solo fornece um entendimento preciso dos processos de decomposição/mineralização e permite visualizar mais profundamente a intensidade dos fluxos de matéria e energia no solo (Nannipieri, 1984).

Diversas medidas foram desenvolvidas para avaliar a atividade microbiana do solo, tais como a taxa de  $\text{CO}_2$  evoluído ou de  $\text{O}_2$  absorvido, a redução no conteúdo de matéria orgânica, avaliada por meio da perda de fitomassa e a estimativa do desaparecimento de constituintes da matéria orgânica, como celulose ou lignina. Apesar dessa variedade de medidas, a evolução de  $\text{CO}_2$  (respiração do solo) é a que apresenta maior sensibilidade e, por isso, tornou-se uma das principais medidas de atividade microbiana devido as baixas concentrações do dióxido de carbono na atmosfera (cerca de 0,35%) quando comparadas às do oxigênio (21%) (Nannipieri et al., 1990).

A respiração do solo corresponde a soma de todas as funções metabólicas onde o  $\text{CO}_2$  é produzido, podendo ocorrer por diferentes meios como atividade da fauna edáfica e das raízes, mas deriva, principalmente, da respiração de microrganismos durante o processo de decomposição da matéria orgânica, ocorrendo em maior grau nas camadas superficiais onde se concentram a maior parte dos resíduos orgânicos (Lundegardh, 1927; Jong et al., 1974; Alef, 1995).

Taxas de respiração elevadas podem significar maior atividade microbiana na degradação dos resíduos vegetais, de exudatos radiculares, de matéria orgânica nativa e/ou adicionada ao solo e de resíduos de macro e microrganismos, resultando em liberação de nutrientes para as plantas à curto prazo e, à longo prazo, perdas de C orgânico para a atmosfera (Parkin et al., 1996).

A relação entre a respiração do solo e a biomassa microbiana no tempo indica a eficiência com a qual os microrganismos utilizam o C disponível para biossíntese e transformação em energia, denominado de quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ), sendo considerado um sensível indicador para estimar a atividade microbiana em função da disponibilidade e quantidade de substrato, o qual é importante para avaliar os efeitos das condições ambientais sobre os microrganismos do solo (Insam & Haselwandter, 1989; Anderson & Domsch, 1993).

Em ambientes estressantes como, por exemplo, em sistemas de plantio convencional, há um aumento da atividade respiratória do solo e redução da biomassa microbiana, significando que uma baixa biomassa microbiana necessita de uma maior energia para se manter, resultando maior emissão de  $\text{CO}_2$  para atmosfera. Isso refere-se

a teoria de sucessão do ecossistema proposta por Odum (1985), que o aumento da respiração microbiana do solo causa perda de energia que, ao invés de ser empregada na síntese de nova biomassa, será utilizada para a manutenção das células, sendo geralmente observado em locais onde a população microbiana gasta mais C oxidável para sua sobrevivência. O uso do  $q\text{CO}_2$  fornece significativa informação sobre como o manejo do solo impacta o desempenho funcional e a biomassa das comunidades microbianas do solo (Anderson & Domsch, 1986).

### Atividade enzimática do solo

A atividade enzimática do solo é importante devido a participação dessas biomoléculas em vários processos bioquímicos essenciais para a manutenção da sustentabilidade e funcionalidade dos ecossistemas e: a) estão relacionadas com outros parâmetros, tais como teor de matéria orgânica, propriedades físicas do solo e atividade ou biomassa microbiana do solo; b) alteram em um curto prazo (1-2 anos); c) agem como um índice biológico integrativo de qualidade do solo; e d) sua mensuração envolve procedimentos relativamente simples se comparados aos de outros atributos e tem o potencial de serem empregados rotineiramente em laboratório (Dick, 1994; Dick et al., 1996). Além disso, a atividade destas biomoléculas indica alterações em processos metabólicos específicos que, em conjunto com outras medidas, como as de biomassa microbiana, fornece uma compreensão ampla sobre o efeito das práticas de manejo do solo sobre a atividade dos microrganismos (Acosta-Martínez et al., 2010; Bowles et al., 2014).

Enzimas catalizam uma série de reações durante a ciclagem dos elementos e também representam o nível metabólico da biomassa microbiana do solo (Balota et al., 2004). Estas são biomoléculas presentes no solo e sintetizadas principalmente por bactérias e fungos durante o processo de decomposição da matéria orgânica para aquisição de monômeros de carbono e nutrientes minerais (Allison & Vitousek, 2005; Moorhead et al., 2012). Os microrganismos sintetizam enzimas quando há limitada disponibilidade de energia e nutrientes para o seu crescimento e, a partir disto, pode-se deduzir que a disponibilidade de substratos é a base para a manutenção da biomassa microbiana do solo (Mooshammer et al., 2014).

Após ser liberada no solo, a enzima pode ser metabolizada pelos microrganismos ou ficar complexada a colóides minerais ou substâncias húmicas, o que reduz sua atividade e acessibilidade por microrganismos, inibidores e extratores (Kiss et al., 1975; Allison & Jastrow, 2006; Burns et al., 2013). De acordo com Gianfreda & Bollag (1996), a atividade enzimática do solo é afetada por uma série de fatores, sendo: a) estacionais: fraca relação com a variação estacional; b) geográfico: reflete a vegetação, solo e clima de uma região; c) *In situ*: profundidade do perfil; d) físico-químicos do solo: correlações entre a presença, tipo e nível de atividade com o pH, umidade, CTC, C orgânico, N total, argila, húmus e sais solúveis; e) disponibilidade de substrato; f) antrópicos: desmatamento, poluição do solo, entre outras interferências da atividade antrópica.

Considerando a importância da ciclagem do C e de nutrientes como N, P e S para a manutenção da fertilidade dos solos e para a nutrição vegetal e atividade microbiana, o estudo de enzimas envolvidas na ciclagem desses elementos permite investigar sua dinâmica no solo, bem como o potencial metabólico da comunidade microbiana (Mandal et al., 2007). De maneira geral, o solo apresenta uma grande variedade de enzimas, as quais atuam de maneira marcante na ciclagem de nutrientes, sendo as mais estudadas apresentadas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Principais enzimas utilizadas como indicadores de atividade microbiana do solo, e os substratos, produtos e elementos relacionados.

Enzima/reação	Substrato	Produto	Elementos/enzimas	Referências
$\beta$ -Glicosidase	$\rho$ -nitrofenil- $\beta$ -D-glucopianosídeo	$\rho$ -nitrofenol	Carbono	Eivazi & Tabatabai (1988)
Urease	Ureia	$\text{NH}_4\text{-N}$	Nitrogênio	Tabatabai & Bremner (1972)
Hidrólise do diacetato de fluoresceína	3-6-diacetilfluoresceína	Fluoresceína	Esterases, proteases e lipases	Schnurer & Rosswall (1982)
Fosfatase	$\rho$ -nitrofenil-fosfato	$\rho$ -nitrofenol	Fósforo	Dick et al. (1996)
Arilsulfatase	$\rho$ -nitrofenil-sulfato	$\rho$ -nitrofenol	Enxofre	Tabatabai & <u>Bremner (1970)</u>

A  $\beta$ -glicosidase pertence ao grupo das glicosidases e galactosidases e é amplamente distribuída na natureza, participando do ciclo global do carbono por meio da hidrólise de componentes complexos da matéria orgânica

para formar monômeros de açúcar e mineralizam nutrientes para o crescimento microbiano no solo (Eivazi & Tabatabai, 1988). Esta enzima tem sido utilizada na avaliação da qualidade do solo por apresentar sensibilidade ao manejo do solo a curto prazo, isto é, inferior a 2 anos (Bandick et al., 1994; Doni et al., 2012).

A urease é produzida por microrganismos, plantas e animais e atua no ciclo do N hidrolisando a ureia, que é adicionada ao solo na forma de fertilizantes ou urina animal, em  $\text{CO}_2$  e amônia (Tabatabai & Bremner, 1972), que pode ser absorvida pelas plantas e microrganismos edáficos, assim como está ligada à eficiência da adubação nitrogenada, principalmente quando se utiliza ureia como fonte.

As fosfatases mais estudadas pertencem ao grupo das fosfomonoesterases e são classificadas como ácida ou alcalina de acordo com o pH ótimo para sua atividade (Tabatabai & Bremner, 1969). Essa enzima participa da ciclagem de P e catalisa a hidrólise de ésteres de fosfato, porém com larga especificidade, sendo capaz de agir com um grande número de diferentes substratos a diferentes taxas (velocidades) (Eivazi & Tabatabai, 1977) e, além disso, promove a liberação do P na forma iônica ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) e o torna disponível para as plantas e os microrganismos (Dick et al., 1996).

A hidrólise do diacetato de fluoresceína foi inicialmente empregada para localizar acetil-esterases em protistas (Medzon & Brady, 1969) e, posteriormente, para determinar a quantidade de biomassa que se encontra ativa no solo, compreendendo fungos (Sönderström, 1977) e bactérias (Lundgren, 1981). O diacetato de fluoresceína é hidrolisada por diversos grupos de enzimas, com destaque para as proteases, lipases e esterases (Schnurer & Rosswall, 1982).

Diversos tipos de sulfatases ocorrem na natureza, sendo classificadas de acordo com o tipo de éster de sulfato que hidrolisam, como: arilsulfatases, alquilsulfatases, sulfatases esteroides, glicosulfatases, condrosulfatases e mirosulfatases (Roy, 1960). A arilsulfatase é a principal sulfatase estudada nos solos, sendo responsável por hidrolisar ésteres orgânicos de sulfato, tornando disponível o enxofre inorgânico na forma de sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) para plantas e microrganismos (Tabatabai & Bremner, 1970). Esta enzima pode ser detectada em plantas, animais e microrganismos, servindo como indicador da biomassa de fungos, uma vez que estes apresentam ésteres de sulfato nas paredes celulares (Bandick & Dick, 1999).

A atividade enzimática é facilmente afetada pelo uso e manejo do solo devido a sua sensibilidade às alterações neste ecossistema. Em geral, é incrementada em sistemas conservacionistas, como plantio direto, quando comparados aos sistemas convencionais, como plantio convencional (Dick, 1984; Balota et al., 2004). Vários estudos reportaram incrementos na atividade das principais enzimas relacionadas aos ciclos de C e nutrientes, como a atividade da fosfatase (Melero et al., 2008), urease (Carneiro et al., 2009),  $\beta$ -glicosidase (Peixoto et al., 2010) e arilsulfatase (Lisboa et al., 2012).

Esses resultados demonstram a função da entrada de resíduos orgânicos em decorrência dos sistemas adotados, onde preserva-se a estrutura do solo, realiza a rotação de cultura e mantém o solo coberto com formação de palhada, contribuindo assim para a preservação da matéria orgânica do solo (Souza et al., 2008). A biomassa e a respiração microbiana também estão relacionadas a atividade de enzimas, tendo sido maiores nas áreas sob plantio direto e menores no plantio convencional, demonstrando que o plantio direto é capaz de manter a qualidade biológica do solo (Lisboa et al., 2012). Nota-se que sistemas com maior aporte de resíduo, como os SIPA, podem contribuir para melhoria na qualidade do solo e para respostas favoráveis dos indicadores da qualidade do solo.

### **Técnicas moleculares para o estudo de microbiomas de solos**

O microbioma dos solos é formado por uma imensa biodiversidade do solo, e sua relação com os vários nichos de colonização e as condições predominantes (por exemplo, agregados de vários tamanhos e variação na disponibilidade de fontes nutricionais, respectivamente) é extremamente complexa e dinâmica ao longo do tempo e do espaço avaliado. Neste sentido, a diversidade de microrganismos obtida a partir de métodos dependentes de cultivo ou tradicionais, não representa a comunidade microbiana total do solo (Staley & Konopka, 1985).

A ideia de fragmentar os constituintes do microbioma não fornece respostas consistentes e que levem ao entendimento da sua complexidade, bem como da heterogeneidade dos microrganismos. Em virtude da dificuldade para acessar, descrever e compreender os grupos de microrganismos do solo, as técnicas independentes de cultivo, baseadas no estudo de ácidos nucleicos (DNA ou RNA), são imprescindíveis para o estudo de comunidades microbianas complexas.

A primeira técnica molecular que contribui para o estudo de comunidades microbianas é a reação em cadeia da polimerase (PCR). Esta técnica permite a amplificação de pequenos fragmentos de ácidos nucleicos, extraídos

da amostra de solo ou amostra ambiental (Saiki et al., 1985; 1988). A reação de PCR consiste na desnaturação da fita simples de DNA, com posterior anelamento dos *primers* de interesse (sequências iniciadoras) às regiões alvo, seguido da extensão de uma fita de DNA complementar pela adição de nucleotídeos a partir dos *primers*. O fragmento de interesse aumenta de forma exponencial e o ciclo (desnaturação-anelamento-extensão) se repete de 25 a 35 vezes, a depender da reação e do interesse de estudo. O produto da PCR é visualizado em gel de agarose, no qual se pode observar ainda a intensidade da banda obtida que é um indício do número de pares de base (tamanho) e também a presença de possível contaminação na reação (bandas inespecíficas no gel).

O PCR quantitativo em tempo real (qPCR) visa a quantificação do número de cópias de um fragmento de DNA alvo (Pereira & Silva et al., 2012). Com esta informação é possível o conhecimento da abundância de determinado grupo microbiano na amostra, ou seja, o número de cópias do gene alvo (que representa o microrganismo que se deseja avaliar) por grama de solo.

A análise dos perfis de DNA oriundas do produto de PCR, que fornece informações com relação à estrutura de comunidades microbianas, pode ser feita utilizando várias ferramentas. Dentre as principais análises estão: a) eletroforese em gradiente de gel desnaturante (DGGE) ou eletroforeses em gel com gradiente de temperatura (TGGE); b) polimorfismo de tamanho e composição de bases de fragmentos terminais de restrição (T-RFLP) ou polimorfismo do tamanho de fragmentos de restrição (RFLP), e análise de restrição do DNA ribossomal amplificado (ARDRA).

As técnicas de DGGE e TGGE permitem a análise de produtos de PCR de acordo com as distintas sequências de pares de bases, sendo que as moléculas de DNA do mesmo tamanho e sequências de nucleotídeos diferentes apresentam comportamento eletroforético distinto no gel quando expostas aos gradientes de agentes desnaturantes (Muyzer et al., 1993, 1999; Heuer & Smalla, 1997).

A técnica de T-RFLP é um método molecular quantitativo para análises rápidas de comunidades microbianas complexas (Liu et al., 1997) e que fornece o tamanho dos fragmentos terminais de restrição (T-RFs), podendo sua quantidade ser estimada com a utilização de um sequenciador automático (Oros-Sichler et al., 2007).

O RFLP é baseado na digestão do DNA ou de sequências de DNA específicas por enzimas de restrição, seguida de separação eletroforética em gel para a observação dos fragmentos resultantes (Stryer, 1996). A técnica de ARDRA é utilizada para análises rápidas de diversidade de um ambiente, é considerado um tipo de RFLP, que se baseia no grau de conservação dos sítios de restrição do DNA que reflete os padrões filogenéticos (Grifoni et al., 1995; Reis Junior et al., 2002).

A técnica de sequenciamento de ácidos nucleicos é uma importante ferramenta para o estudo da composição de comunidades microbianas complexas e sua ecologia (Muyzer, 1999). O sequenciamento, juntamente com a PCR e a clonagem (fragmentos de PCR inseridos em um vetor - *Escherichia coli*, por exemplo) são métodos amplamente utilizados. Os clones que possuem o fragmento de interesse são considerados positivos e podem ser sequenciados. Utilizando esta ferramenta para estudos que visam à avaliação da microbiologia do solo, é possível saber quais grupos microbianos compõem a amostra de interesse. Com esta informação, inúmeras inferências podem ser feitas quanto às funções desempenhadas e interações entre os organismos.

As tecnologias para o sequenciamento de ácidos nucleicos estão cada vez mais avançadas e, atualmente, plataformas como a Roche 454 (Roche), HiSeq2000 (Illumina), PacBio (Pacific BioSciences) entre outras são enquadradas no que se chama de sequenciamento de nova geração. Outras técnicas moleculares podem ainda ser citadas, como: Polimorfismo conformacional de fita simples (SSCP) (Oros-Sichler et al., 2007), heterogeneidade de dimensão de fragmentos de PCR (LH-PCR) e análise automatizada do espaço intergênico ribossomal (Arisa) (Kirk et al., 2004), além de métodos de hibridização, como o método de FISH (Neves & Guedes, 2012), e ainda um importante método em estudos de biologia molecular chamados de microarranjos ou chips de DNA (Ogram, 2000; Greene & Voordouw, 2003).

Estas técnicas moleculares podem auxiliar na avaliação dos SIPA, no entanto, ainda são escassos estudos com este foco.

## **RELAÇÃO ENTRE O MANEJO EM SIPA E A QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO**

O manejo adequado em sistemas agrícolas é importante para a manutenção da produtividade das culturas, principalmente por determinar alterações nos atributos químicos, físicos e biológicos do solo (Cardoso et al., 2013). Como mencionado anteriormente, o componente biológico do solo é fundamental para a manutenção de

processos como a redistribuição de resíduos orgânicos, transformações da matéria orgânica e a dinâmica de nutrientes.

A adoção de manejos sustentáveis é essencial para a manutenção dos processos biológicos que ocorrem no solo, pois, caso contrário, o manejo pode até limitar os sistemas produtivos. Em sistemas convencionais, por exemplo, constata-se reduções dos teores de matéria orgânica, justificado não só pela baixa entrada e diversidade de resíduos orgânicos mas também pelo revolvimento das camadas superficiais do solo. Isso promove a destruição da estrutura do solo e, conseqüentemente, expõe a matéria orgânica que estava protegida no interior dos agregados, o que aumenta a oxidação da matéria orgânica nativa. Em curto prazo isso provocará a diminuição da disponibilidade de nutrientes para as plantas e microrganismos, alterando a estrutura das comunidades microbianas do solo (Rodrigues et al., 2013), resultando em menor biomassa microbiana e, conseqüentemente, em menor atividade quando comparada a sistemas de plantio direto e mais recentemente em SIPA.

Os SIPA destacam-se pelo não revolvimento do solo, rotação de culturas e o componente animal, conforme já descrito em outros capítulos deste livro. Assim tem-se uma diversidade de entrada de C e outros nutrientes via fitomassa, urina e esterco que associados a manutenção da estrutura do solo e microhabitats para diferentes microrganismos, ativam o sistema biológico do solo.

Uma prática de manejo do solo bastante interessante e que se encaixa na premissa do SIPA é a rotação de culturas, pois permite maior diversidade de resíduos vegetais, maior entrada de C, formação de novos nichos e síntese de biomassa microbiana e compostos orgânicos. Entretanto, a rotação deve ser conduzida de forma que priorize a qualidade do substrato e não apenas quantidades, uma vez que a baixa qualidade nutricional e predominância de resíduos recalcitrantes afeta negativamente a biomassa microbiana (Fontes et al., 2014; Oliveira et al., 2018). Nesta perspectiva, a presença de leguminosa em sistema integrado de produção de grãos e carne melhora tanto a ciclagem dos nutrientes e da biomassa microbiana do solo, devido apresentar menor relação C:N, quanto às condições físicas do solo, pela presença do sistema radicular mais profundo, que permite maior aeração e conseqüentemente maior absorção de nutrientes (Conte et al., 2011).

Já podem ser encontrados na literatura resultados de pesquisas que demonstram a resposta dos atributos biológicos sob influência dos sistemas integrados de produção. Souza et al. (2010) avaliaram o efeito da pressão de pastejo na integração soja-bovinos de corte sob plantio direto em São Miguel das Missões, RS, e constataram por meio dos resultados de C-BM, N-BM, CO<sub>2</sub> e qCO<sub>2</sub> que a implementação deste sistema submetido a intensidades moderadas de pastejo (pasto de 20 - 40 cm) consegue-se manter o nível de qualidade biológica do solo semelhante ao sistema plantio direto sem a entrada de animais.

A entrada do animal no sistema produtivo altera positivamente a ciclagem dos nutrientes e favorece seus demais componentes, isso porque cerca de 60 - 99 % dos nutrientes retornam ao sistema (Hentz et al., 2014), ocorrendo a ativação da biomassa microbiana que realiza os processos de decomposição e mineralização dos resíduos orgânicos, culminando no aporte e ciclagem dos nutrientes provenientes do material orgânico.

Carvalho et al. (2016) estudaram a evolução dos atributos biológicos em solo hidromórfico sob SIPA em sucessão soja/milho, no Rio Grande do Sul e encontraram aumento no teor de C orgânico total na camada de 0,10-0,20 m na área com pastejo, bem como maior abundância e diversidade da fauna edáfica do solo.

Outro componente interessante no SIPA é o componente florestal (Figura 1), destacando-se principalmente pela maior umidade e temperatura, o que promove a regulação e acúmulo de C no solo, maior diversidade da macrofauna, redução da pressão por abertura de novas áreas, maior recuperação de nutrientes lixiviados e formação de habitats na rizosfera. Oliveira et al. (2015) avaliaram a dinâmica da matéria orgânica em SIPA com o componente florestal no sistema e verificaram que nas linhas das árvores o estoque de C aumentou em relação a pastagem isolada. Essa alteração está relacionada a maior diversidade de compostos orgânicos oriundos da maior diversidade de plantas associada a quantidade e qualidade desse material, além do fato de proporcionar um microclima adequado para os micro e macro organismos.

Apesar da importância do SIPA para a sustentabilidade dos agroecossistemas, ao considerar as bases indexadoras Scopus e Web of Science e realizar uma busca com as palavras-chave “soil microbial activity” e “crop-livestock” AND “integrated” AND “system”, foram recuperados apenas 11 artigos científicos com as respectivas palavras-chave (Tabela 4). Esses poucos estudos encontrados nessas bases envolvendo atributos biológicos em SIPA mostram a necessidade de os órgãos de pesquisa investir em pesquisas sobre o tema.

Assim, há necessidade de avaliar a qualidade do solo em SIPA envolvendo outros fatores relacionados ao uso e manejo do solo. Com estes resultados, será possível a adoção de estratégias de manejo que reflitam em sus-

tentabilidade agrícola, possibilitando maior produtividade das culturas e a maior produção animal em diferentes áreas edafoclimáticas em escala regional e, posteriormente, em escala global.

**Tabela 4.** Principais estudos sobre indicadores biológicos do solo em sistemas integrados de produção agropecuária nas bases de dados Scopus e Web of Science, de acordo com pesquisa realizada em fevereiro de 2018.

Situação	Principais resultados	Referência
Rotação de culturas em sistema integrado de produção agropecuária	A atividade enzimática foi maior em rotação (centeio-algodão) que em sistema com algodão contínuo;	Acosta-Martínez et al. (2004)
	O sistema integrado maior população de fungos em relação ao sistema com algodão contínuo	
Papel dos sistemas integrados irrigados de regiões áridas e semiáridas em conservar os recursos naturais, econômicos e os impactos de seu potencial produtivo sobre a sociedade	Redução de 40% na utilização de fertilizantes nitrogenados;	Allen et al. (2007)
	Melhoria da atividade microbiana e enzimática do solo;	
	A irrigação contribui positivamente para a produção em sistemas integrados localizados em regiões áridas e semiáridas;	
	Maior produtividade das culturas anuais, resultando em sustentabilidade a longo prazo	
Intensidade de pastejo	A biomassa microbiana do solo relacionou-se diretamente com a presença de raízes;	Souza et al. (2008)
	O P da biomassa microbiana aumentou em menores intensidades de pastejo, o que contribuiu para a presença de P no solo, extraível por resina de troca	
Disponibilidade de água em um sistema integrado de produção agropecuária	O sistema integrado de produção agropecuária apresentou maior biomassa microbiana e atividade enzimática em comparação com o sistema que empregava algodão contínuo	Acosta-Martínez et al. (2010)
Intensidade de pastejo	Alta intensidade de pastejo reduz o C, N e P da biomassa microbiana do solo e aumenta a respiração microbiana sob estresse hídrico	Souza et al. (2010)
Relação da matéria orgânica dissolvida com a atividade enzimática e a mineralização do solo C e N do solo	As atividades enzimáticas do solo estão mais relacionadas com as peculiaridades de cada sistema de manejo do solo e menos com a química da matéria orgânica dissolvida	Tian et al. (2010)
Intensidades de pastejo	A diversidade funcional microbiana é beneficiada sob intensidades moderadas de pastejo comparada a áreas com alta intensidade áreas não pastejadas	Chávez et al. (2011)
Uso e manejo do solo	A integração lavoura-pecuária melhorou os teores de C na biomassa microbiana e nos estoques de C do solo	Carneiro et al. (2013)
Complexidade do sistema	O SIPA promove melhor produção de carne bovina devido à integração entre a produção agrícola e a pecuária, promovendo maior produtividade, qualidade e sustentabilidade ambiental	Salton et al. (2014)
Intensidade de pastejo	A biomassa microbiana foi favorecida pela entrada de animais e pela intensidade moderada de pastejo	Silva et al. (2015)
	A qualidade do solo foi maior no sistema de cultivo de arroz com inserção do componente animal	
Diferentes espécies de plantas e inserção do componente animal	(gado) e com elevada diversidade de plantas (três espécies de pastagens cultivadas), medida por meio dos maiores estoques de C e N no solo e da atividade enzimática), em relação ao sistema tradicional	Martins et al. (2017)

## PERSPECTIVAS PARA O ESTUDO DA QUALIDADE BIOLÓGICA DO SOLO EM SIPA

O solo, para ser considerado saudável, deve ter a capacidade de executar suas funções na natureza sustentando o desenvolvimento vigoroso das plantas, dos animais que nele habitam e do homem que o utiliza para produção de alimentos e fibra, sem prejudicar a qualidade dos recursos naturais (Doran & Parkin, 1994). Neste sentido, para a aplicação do monitoramento da qualidade biológica do solo deve-se considerar como importantes estratégias os seguintes passos:

A criação de um banco de dados que reúna informações sobre atributos biológicos para diferentes sistemas de produção agrícola, localizados em diferentes regiões do país;

Implementar o uso integrado da diversidade dos microrganismos como indicadora da qualidade biológica do solo quando submetido a diferentes usos e manejos;

Destacar o papel funcional dos microrganismos do solo na promoção de processos ecológicos essenciais, enfatizando a importância de sua atuação para a produção agrícola.

Integrar os dados de atributos biológicos aos de atributos físicos e químicos e correlacioná-los com a produtividade do sistema

Se estabelecer, para as diferentes regiões do país, as relações SIPA mais adequadas para a manutenção da fauna, mesofauna e microbiota do solo.

O monitoramento constante da qualidade biológica do solo deve direcionar o foco e os esforços de pesquisa para os microrganismos edáficos e sua relação com processos ecossistêmicos que ocorrem no solo. Entretanto, a utilização da diversidade dos microrganismos pode ser mais precisa e funciona como uma ferramenta capaz de identificar sucessões ecológicas e grupos microbianos funcionais ativos, sendo possível uma compreensão ampla e precisa de quais processos são beneficiados ou prejudicados em função do manejo do solo.

Os bancos de dados genéticos são um exemplo de como as informações de pesquisa podem ser úteis para estudar as relações filogenéticas, taxonômicas e funcionais entre os microrganismos. Similarmente, bancos de dados com informações sobre diferentes atributos microbiológicos e bioquímicos, obtidos de diferentes regiões e condições, como de clima, solo e sistema de manejo, permitem entender a existência de padrões biogeográficos, podendo auxiliar a correlacionar fatores edafoclimáticos, de planta, solo e de localidade. Da mesma forma, a conexão entre a diversidade microbiana e a funcionalidade do solo é importante em sistemas agrícolas, pois diversos grupos funcionais microbianos estão envolvidos em processos que contribuem para a fertilidade do solo e, conseqüentemente, para a produtividade das culturas.

Logo, a diversidade taxonômica e funcional dos microrganismos em solos agrícolas são medidas que também podem ser relacionadas às demais medidas microbiológicas, além dos atributos físicos e químicos, possibilitando ampliar a precisão dos estudos sobre qualidade do solo e permitindo a tomada de decisões direcionada para a sustentabilidade dos agroecossistemas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora haja muitas informações sobre a relação entre o manejo do solo e seus efeitos sobre diversos atributos biológicos como a macro, meso e microfauna, o estado da arte atual mostra que, em grande parte, os microrganismos são determinantes para o funcionamento dos ecossistemas naturais e dos agroecossistemas, pois atuam em processos-chave que contribuem para melhorias na qualidade do solo e para um sistema equilibrado.

Em virtude da existência de solos de baixa fertilidade e com baixo teor de matéria orgânica nas regiões de clima tropical e subtropical, os SIPA representam uma alternativa promissora para a entrada e manutenção de resíduos culturais e animais (urina e esterco), que, somada à maior diversificação de culturas, promove a melhoria e a manutenção de solos biologicamente ativos e diversos. Este fato torna o SIPA, um sistema com potencial para sustentar a demanda por alimentos nestas regiões nos próximos anos, como reflexo de um sistema ambientalmente sustentável (Silva et al., 2008; Wright et al., 2012).

As técnicas clássicas têm se mostrado úteis na determinação de indicadores microbiológicos e bioquímicos, pois permitem a mensuração da magnitude dos impactos causados pelo manejo do solo aos micro-organismos edáficos. Avaliações da atividade enzimática têm sido usadas como um parâmetro integrativo em estudos sobre a qualidade do solo, pois mostram seu aspecto funcional, além das vantagens metodológicas como baixo custo e facilidade de medição em laboratório.

Tendo em vista a heterogeneidade das comunidades microbianas do solo e a necessidade de métodos cada vez mais completos para o estudo destes microbiomas, as técnicas moleculares, aliadas a técnicas tradicionais de estudo, representam um progresso biotecnológico para o estudo dos atributos biológicos do solo. Essas técnicas representam um outro viés de avaliação da qualidade do solo e da sustentabilidade dos agroecossistemas, pois têm permitido grandes avanços e o aumento expressivo da amplitude dos estudos de microbiologia do solo, apesar dos níveis variados de dificuldade, necessidade de experiência de pessoal, custo de desenvolvimento entre outros.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; BELL, C. W.; MORRIS, B. E. L.; ZAK, J.; ALLEN, V. G. Long-term soil microbial community and enzyme activity responses to an integrated cropping-livestock system in a semi-arid region. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v. 137, n. 3-4, p. 231-240, 2010.
- ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; ZOBECK, T. M.; ALLEN, V. Soil microbial, chemical and physical properties in continuous cotton and integrated crop-livestock systems trade names and company names are included for the benefit of the reader and do not infer any endorsement or preferential treatment of the product. *Soil Science Society of America Journal*, v. 68, p. 1875-1884, 2004.
- ALEF, K. Estimation of soil respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. 1° ed. New York: Academic Press, 1995, p. 463-490.
- ALLEN, V. G.; BAKER, M. T.; SEGARRA, E.; BROWN, C. P. Integrated irrigated crop-livestock systems in dry climates. *Agronomy Journal*, v. 99, p. 346-360, 2007.
- ALLISON, S. D.; JASTROW, J. D. Activities of extracellular enzymes in physically isolated fractions of restored grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 38, p. 3245-3256, 2006.
- ALLISON, S. D.; VITOUSEK, P. M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 37, p. 937-944, 2005.
- ANDERSON, J. M. Invertebrate-mediated transport processes in soils. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 24, n. 1-3, p. 5-19, 1988.
- ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils. *Soil Science*, v. 130, n. 4, p. 211-216, 1980.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Carbon assimilation and microbial activity in soil. *Zeitschrift für Pflanzenernaehrung Bodenkunde*, v. 149, p. 457-468, 1986.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Ratio of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 21, n. 4, p. 471-479, 1989.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.
- ARAÚJO, A. S. F.; LEITE, L. F. C.; SANTOS, V. B.; CARNEIRO, R. F. V. Soil microbial activity in conventional and organic agricultural systems. *Sustainability*, v. 1, p. 268-276, 2009.
- ARSHAD, M. A.; MARTIN, S. Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 88, p. 153-160, 2002.
- ASSIS, P. C. R.; STONE, L. F.; SILVEIRA, A. L. R.; OLIVEIRA, J. M.; WRUCK, F. J.; MADAR, B. E. Biological soil properties in integrated crop-livestock-forest systems. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 41, p. 1-12, 2017.
- BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DOBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 29, n. 5, p. 911-922. 1997.
- 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, p. 641-649, 1998.
- BALOTA, E. L.; KANASHIRO, M.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; DICK, R. P. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 35, p. 300-306, 2004.
- BANDICK, A. K.; DICK, R. P. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 31, p. 1471-1479, 1999.
- BANDICK, A.; MILLER, M.; DICK, R. P. Soil enzyme stability as an indicator of soil quality. Madison: ASA, 1994. 292 p.
- BARDGETT, R. D.; CHAN, K. F. Experimental evidence that soil fauna enhance nutrient mineralization and plant nutrient uptake in montane grassland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 31, n. 7, p. 1007-1014, 1999.

- BARDGETT, R. D.; Van Der PUTTEN, W. H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, v. 515, n. 7528, p. 505-511, 2014.
- BEARE, M. H. Fungal and bacterial pathways of organic matter decomposition and nitrogen mineralization in arable soils. In: BRUSSAARD, L.; FERRERA-CERRATO, R. *Soil Ecology in Sustainable Agricultural Systems*. Boca Raton: CRC/Lewis Publishers, 1997. p. 37-70.
- BLANCHART, E.; BRUAND, A.; LAVELLE, P. The physical structure of casts of *Millsonia anomala* (Oligochaeta: Megascolecidae) in shrub savanna soils (Côte d'Ivoire). *Geoderma*, v. 56, n. 1-4, p. 119-132, 1993.
- BOWLES, T. M.; ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; CALDERÓN, F.; JACKSON, L. E. Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 68, p. 252-262, 2014.
- BROOKES, P. C.; POWLSON, D. S.; JENKINSON, D. S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 14, p. 319-329, 1982.
- BROOKES, P.C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D. S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 17, n. 6, p. 837-842, 1985.
- BURNS, R. G.; DEFOREST, J. L.; MARXSEN, J.; SINSABAUGH, R. L.; STROMBERGER, M. E.; WALLENSTEIN, M. D.; WEINTRAUB, M. N.; ZOPPINI, A. Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 58, p. 216-234, 2013.
- CARDOSO, E. J. B. N.; VASCONCELLOS, R. L. F.; BINI, D.; MIYAUCHI, M. Y. H.; SANTOS, C. A.; ALVES, P. R. L.; PAULA, A. M. DE; NAKATANI, A. S.; PEREIRA, J. M.; NOGUEIRA, M. A. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health? *Scientia Agricola*, v. 70, n. 4, p. 274-289, 2013.
- CARNEIRO, M. A. C.; SOUZA, E. D.; PAULINO, H. B.; SALES, L. E. O.; VILELA, L. A. F. Atributos indicadores de qualidade em solos de Cerrado no entorno do Parque Nacional das Emas, Goiás. *Bioscience Journal*, v. 29, n. 6, p. 1857-1868, 2013.
- CARNEIRO, M. A. C.; SOUZA, E. D.; REIS, E. F.; PEREIRA, H. S.; AZEVEDO, W. R. Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de Cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 33, p. 147-157, 2009.
- CARVALHO, J. S.; KUNDE, R. J.; STÖCKER, C. M.; LIMA, A. C. R.; SILVA, J. L. S. Evolução de atributos físicos, químicos e biológicos em solo hidromórfico sob sistemas de integração lavoura-pecuária no bioma Pampa. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 51, n. 9, p.1131-1139, 2016.
- CHÁVEZ, L. F.; ESCOBAR, L. F.; ANGHINONI, I.; CARVALHO, P. C. F.; MEURER, E. J. Diversidade metabólica e atividade microbiana no solo em sistema de integração lavoura-pecuária sob intensidades de pastejo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 46, n. 10, p. 1254-1261, 2011.
- CHENG, W. Rhizosphere priming effect: Its functional relationships with microbial turnover, evapotranspiration, and C-N budgets. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 41, n. 9, p. 1795-1801, 2009.
- CLEVELAND, C. C.; LIPTZIN, D. C:N:P stoichiometry in soil: is there a "Redfield ratio" for the microbial biomass? *Biogeochemistry*, v. 85, n. 3, p. 235-252, 2007.
- CONTE, O.; FLORES, J. P. C.; CASSOL, L. C.; ANGHINONI, I.; CARVALHO, P. C. F.; LEVIEN, R.; WESP, C. L. Evolução de atributos físicos de solo em sistema de integração lavoura-pecuária Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 46, n. 10, p.1301-1309, 2011.
- CROTTY, F. V.; ADL, S. M.; BLACKSHAW, R. P.; MURRAY, P. J. Measuring soil protist respiration and ingestion rates using stable isotopes. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 57, p. 919-921, 2013.
- DICK, R. P. Soil enzymes activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Madson: Soil Science Society of America, v. 35, 1994. p. 107-124.
- DICK, R. P.; BREAKWELL, D. P.; TURCO, R. F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, J. W.; JONES, A. J. *Methods for assessing soil quality*. Madson: Soil Science Society of America, 1996. p. 247-272.
- DICK, W. A. Influence of long-term tillage and crop rotation combinations on soil enzyme activities. *Soil Science Society of America Journal*, v. 48, p. 569-574, 1984.
- DONI, S.; MACCI, C.; CHEN, H.; MASCIANDARO, G.; CECCANTI, B. Isoelectric focusing of  $\beta$ -glucosidase humic-bound activity in semi-arid Mediterranean soils under management practices. *Biology and Fertility of Soils*, v. 48, p. 183-190, 2012.
- DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. W., et al. *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Madson: SSSA, 1994. p. 3-21.

- DORAN, J. W.; ZEISS, M. R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*, v. 15, p. 3-11, 2000.
- EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 20, n. 5, p. 601-606, 1988.
- EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Phosphatases in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 9, p. 167-172, 1977.
- FERREIRA, D. A.; CARNEIRO, M. A. C.; SAGGIN Jr, O. J. Fungos micorrízicos arbusculares em um Latossolo Vermelho sob manejos e usos no Cerrado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 36, p. 51-61. 2012.
- FONSECA, G. C.; CARNEIRO, M. A. C.; COSTA, A. R.; OLIVEIRA, G. C.; BALBINO, L. C. Atributos físicos, químicos e biológicos de Latossolo Vermelho distrófico de Cerrado sob duas rotações de cultura. *Revista Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 37, n. 1, p. 22-30, 2007.
- FONTAINE, S.; BAROT, S.; BARRÉ, P.; BDIQUI, N.; MARY, B.; RUMPEL, C. Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature*, v. 450, p. 277-280, 2007.
- FONTES, A.G.; GAMA-RODRIGUES, A. C.; GAMA-RODRIGUES, E. F.; SALES, M. V. S.; COSTA, M. G.; MACHADO, R. C. R. Nutrient stocks in litterfall and litter cocoa agroforests in Brazil, *Plant and Soil*, v. 383, 313-335, 2014.
- GAMA-RODRIGUES, E. F.; BARROS, N. F.; VIANA, A. P.; SANTOS, G. A. Alterações na biomassa e na atividade microbiana da serapilheira e do solo, em decorrência da substituição de cobertura florestal nativa por plantações de eucalipto, em diferentes sítios da região Sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, n. 4, p. 1489-1499, 2008.
- GAMA-RODRIGUES, E. F.; GAMA-RODRIGUES, A. C. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; O., CAMARGO F. A. Fundamentos da matéria orgânica do solo ecossistemas tropicais e subtropicais. 2ª. ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008, p. 159-170.
- GEISEN, S.; ROSENGARTEN, J.; KOLLER, R.; MULDER, C.; URICH, T.; BONKOWSKI, M. Pack hunting by a common soil amoeba on nematodes. *Environmental Microbiology*, v. 17, n. 11, p. 4538-4546, 2015.
- GIANFREDA, L.; BOLLAG, J. M. Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J. M. *Soil Biochemistry*. New York: Marcel Dekker, v. 9, 1996. p. 123-193.
- GIJSMAN, A. J.; OBERSON, A.; FRIESEN, D. K.; SANZ, J. I.; THOMAS, R. J. Nutrient cycling through microbial biomass under rice-pasture rotations replacing native savanna. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 29, n. 9-10, p. 1433-1441, 1997.
- GREENE, E. A.; VOORDOUW, G. Analysis of environmental microbial communities by reverse sample genome probing. *Journal of Microbiological Methods*, v. 53, n. 2, p. 211-219. 2003.
- GRIFONI, A.; BAZZICALUPO, M.; DI SERI, C.; FANCELLI, S.; FANI, R. Identification of Azospirillum strains by restriction fragment length polymorphism of 16S rDNA and of the histidine operon. *FEMS Microbiology Letters*, v. 127, p. 85-91. 1995.
- HANEY, R.; SENSEMAN, S.; KRUTZ, L.; HONS, F. Soil carbon and nitrogen mineralization as affected by atrazine and glyphosate. *Biology and Fertility of Soils*, v. 35, n. 1, p. 35-40, 2002.
- HENDRIX, P. F.; PARMELEE, R. W.; CROSSLEY JR., D. A.; COLEMAN, D. C.; ODUM, E. P.; GROFFMAN, P. M. Detritus food webs in conventional and no-tillage agroecosystems. *BioScience*, v. 36, n. 6, p. 374-380, 1986.
- HENTZ, P.; CARVALHO, N. L.; LUZ, L. V.; BARCELLOS, A. L. Ciclagem de nitrogênio em sistemas de integração lavoura-pecuária. *Ciência e Natura*, v. 36, Ed. Especial II, p. 663-676, 2014.
- HEUER, H.; SMALLA, K. Application of denaturing gel electrophoresis and temperature gradient gel electrophoresis for studying soil microbial communities. In: Van ELSAS, J. D.; WELLINGTON, E. M. H.; TREVORS, J. T.; DEKKER, M. (Eds.). *Modern soil microbiology*. New York: Marcel Dekker Publisher, 1997. p. 353-373.
- INGHAM, R. E.; TROFYMOW, J. A.; INGHAM, E. R.; COLEMAN, D. C. Interactions of bacteria, fungi, and their nematode grazers: Effects on nutrient cycling and plant growth. *Ecological Monographs*, v. 55, n. 1, p. 119-140, 1985.
- INSAM, H.; HASELWANDTER, K. Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession. *Oecologia*, v. 79, p. 174-178, 1989.
- JASTROW, J. D.; MILLER, R. M. Methods for assessing the effects of biota on soil structure. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 34, p. 279-303. 1991.
- JENKINSON, D. S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soils: measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. N. *Soil Biochemistry*. New York: Marcel Decker, 1981. p. 415-471.
- JOERGENSEN, R. G.; ANDERSON, T. H.; WOLTERS, V. Carbon and nitrogen relationships in the microbial biomass of soils in beech (*Fagus sylvatica* L.) forests. *Biology and Fertility of Soils*, v. 19, n. 2-3, p. 141-147, 1995a.
- JOERGENSEN, R. G.; KÜBLER, H.; MEYER, B.; WOLTERS, V. Microbial biomass phosphorus in soils of beech (*Fagus sylvatica* L.) forests. *Biology and Fertility of Soils*, v. 19, n. 2-3, p. 215-219, 1995b.

- JONG, E.; SCHAPPERT, H. J. V.; MACDONALD, K. B. Carbon dioxide evolution from virgin and cultivated soil as affected by management practices and climate. *Canadian Journal of Soil Science*, v. 54, n. 3, p. 299-307, 1974.
- KAISER, E. A.; MARTENS, R.; HEINEMEYER, O. Temporal changes in soil microbial biomass carbon in an arable soil. Consequences for soil sampling. *Plant and Soil*, v. 170, p. 287-295, 1995.
- KARLEN, D.; MAUSBACH, M.; DORAN, J.; CLINE, R.; HARRIS, R.; SCHUMAN, G. Soil quality: A concept, definition, and framework for evaluation. *Soil Science Society of America Journal*, v. 61, n. 1, p. 4-10, 1997.
- KHAN, K. S.; MACK, R.; CASTILLO, X.; KAISER, M.; JOERGENSEN, R. G. Microbial biomass, fungal and bacterial residues, and their relationships to the soil organic matter C/N/P/S ratios. *Geoderma*, v. 271, p. 115-123, 2016.
- KHOLKHAR, I.; HAIDER, M. S.; MUKHTAR, I. A. A.; MUSHTAG, S. Evaluation of antagonistic activity of soil bacteria against plant pathogens fungi. *Pakistan Journal of Phytopathology*, v. 23, p. 166-169, 2011.
- KIBBLEWHITE, M. G.; RITZ, K.; SWIFT, M. J. Soil health in agricultural systems. *Philosophical Transactions of The Royal Society B*, v. 363, p. 685-701, 2008.
- KIRK, J. L.; BEAUDETTE, L. A.; HART, M.; MOUTOGLIS, P.; KLIRONOMOS, J. N.; LEE, H.; TREVORS, J. T. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods*, v. 58, n. 2, p. 169-188, 2004.
- KIRKBY, C. A.; KIRKEGAARD, J. A.; RICHARDSON, A. E.; WADE, L. J.; BLANCHARD, C.; BATTEN, G. Stable soil organic matter: a comparison of C:N:P:S ratios in Australian and other world soils. *Geoderma*, v. 163, p. 197-208, 2011.
- KISS, S.; DRAGAN-BULARDA, M.; RADULESCU, D. Biological significance of enzymes accumulated in soil. *Advances in Agronomy*, v. 27, p. 25-87, 1975.
- LAVELLE, P.; LATTAUD, C.; TRIGO, D.; BAROIS, I. Mutualism and biodiversity in soils. *Plant and Soil*, v. 170, n. 1, p. 23-33, 1995.
- LEE, K. E.; FOSTER, R. C. Soil fauna and soil structure. *Australian Journal of Soil Research*, v. 29, n. 6, p. 745-775, 1991.
- LEMAIRE, G.; FRANZLUEBBERS, A.; CARVALHO, P. C. F.; DEDIEU, B. Integrated crop-livestock systems: Strategies to achieve synergy between agricultural production and environmental quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 190, p. 4-8, 2014.
- LISBOA, B. B.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, A. O.; MARTINS, A. F.; SELBACH, P. A. Microbial indicators of soil quality in different management systems. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 36, p. 45-55, 2012.
- LIU, W.; MARSH, T. L.; CHENG, H.; FORNEY, L. J. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, n. 11, p. 4516-4522, 1997.
- LUNDEGARDH, H. Carbon dioxide evolution of soil and crop growth. *Soil Science*, v. 23, n. 6, p. 417-453, 1927.
- LUNDGREN, B. Fluorescein diacetate as a stain of metabolically active bacteria in soil. *Oikos*, v. 36, p. 17-22, 1981.
- MANDAL, A.; PATRA, A. K.; SINGH, D.; SWARUP, A.; MASTO, R. E. Effect of long-term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages. *Bioresource Technology*, v. 98, p. 3585-3592, 2007.
- MARTINS, A. P.; DENARDIN, L. G. O.; BORIN, J. B. M.; CARLOS, F. S.; BARROS, T.; OZÓRIO, D. V. B.; CARMONA, F. C.; ANGHINONI, I.; CAMARGO, F. A. O.; CARVALHO, P. C. F. Short-term impacts on soil-quality assessment in alternative land uses of traditional paddy fields in Southern Brazil. *Land Degradation & Development*, v. 28, p. 534-542, 2017.
- MEDZON, E. L.; BRADY, M. L. Direct measurement of acetylesterase in living protist cells. *Journal of Bacteriology*, v. 97, p. 402-415, 1969.
- MELERO, S.; VANDERLINDEN, K.; RUIZ, J. C.; MADEJON, E. Long-term effect on soil biochemical status of a Vertisol under conservation tillage system in semi-arid Mediterranean conditions. *European Journal of Soil Biology*, v. 44, n. 4, p. 437-442, 2008.
- MELO FILHO, J. F.; SOUZA, A. L. V.; SOUZA, L. S. Determinação do índice de qualidade subsuperficial em um Latossolo Amarelo coeso dos tabuleiros costeiro, sob floresta natura. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 31, p. 1599-1608, 2007.
- MENDES, R.; KRUIJT, M.; BRUIJN, I.; DEKKERS, E.; VOORT, M. Van DER; SCHNEIDER, J. H. M.; PICENO, Y. M.; SANTIS, T. Z.; ANDERSEN, G. L.; BAKKER, P. A. H. M.; RAAIJMAKERS, J. M. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science*, v. 332, p. 1097-1100, 2011.
- MIRANSARI, M. Soil microbes and the availability of soil nutrients. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 35, n. 11, p. 3075-3084, 2013.
- MOORHEAD, D. L.; LASHERMES, G.; SINSABAUGH, R. L. A theoretical model of C- and N-acquiring exoenzyme activities, which balances microbial demands during decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 53, p. 133-141, 2012.
- MOOSHAMMER, M.; WANEK, W.; ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S.; RICHTER, A. Stoichiometric imbalances between terrestrial decomposer communities and their resources: mechanisms and implications of microbial adaptations to their resources. *Frontiers in Microbiology*, v. 5, n. 2, p. 1-22, 2014.

- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.
- MUYZER, G. DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, v. 2, n. 3, p. 317-322, 1999.
- MUYZER, G., DE WALL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, D.C., v. 59, n. 3, p. 695-700, 1993.
- NANNIPIERI, P. Microbial biomass and activity measurements in soil: ecological significance. In: KLUG, M. J.; REDDY, C. A. *Current Perspectives in Microbial Ecology*. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1984. p. 515-521.
- NANNIPIERI, P.; GREGO, S.; CECCANTI, B. Ecological significance of the biological activity in soil. In: BOLLAG, J. M.; STOTZKY, G. *Soil Biochemistry*. New York: Marcel Dekker, v. 6, 1990. p. 293-355.
- NEVES, S. M. N.; GUEDES, R. M. C. Hibridização in situ fluorescente: princípios básicos e perspectivas para o diagnóstico de doenças infecciosas em medicina veterinária. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 79, n. 4, p. 627-632, 2012.
- ODUM, E. P. Trends expected in stressed ecosystems. *BioScience*, v. 35, n. 7, p. 419-422, 1985.
- OGRAM, A. Soil molecular microbial ecology at age 20: methodological challenges for the future. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 32, p. 1499-1504, 2000.
- OLIVEIRA, B. S.; CARVALHO, M. A. C.; LANGE, A.; WRUCK, F. J.; DALLACORT, R. Atributos biológicos do solo em sistema de integração lavoura-pecuária-floresta, na região Amazônica. *Engenharia na Agricultura*, v. 23, p. 448-456, 2015.
- OLIVEIRA, P. H. G.; GAMA-RODRIGUES, A. C.; GAMA-RODRIGUES, E. F.; SALES, M. V. S. Litter and soil-related variation in functional group abundances in cacao agroforests using structural equation modeling, *Ecological Indicators*, v. 84, p. 254-262, 2018.
- OROS-SICHLER, M.; COSTA, R.; HEUER, H.; SMALLA, K. Molecular fingerprinting techniques to analyze soil microbial communities. In: Van ELSAS, J. D.; JANSSON, J. K.; TREVORS, J. T. (Eds.). *Modern soil microbiology*. London: CRC Press, 2007. p. 355-386.
- PARKIN, T. B.; DORAN, J. W.; FRANCO-VIZCAÍNO, E. Field and laboratory tests of soil respiration. In: DORAN, J. W.; JONES, A. J. *Methods for assessing soil quality*. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p. 231-245.
- PAUL, E. A. Dynamics of organic matter in soils. *Plant and Soil*, v. 76, n. 1-3, p. 275-285, 1984.
- PAULA, F. S.; RODRIGUES, J. L. M.; ZHOU, J; WU, L.; MUELLER, R. C.; MIRZA, B. S.; BOHANNAN, B. J. M.; NÜSSLEIN, K.; DENG, Y.; TIEDJE, J. M.; PELLIZARI, V. H. Land use change alters functional gene diversity, composition and abundance in Amazon forest soil microbial communities. *Molecular Ecology*, v. 23, n. 12, p. 2988-2999, 2014.
- PEIXOTO, R. S.; CHAER, G. M.; FRANCO, N.; REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; ROSADO, A. S. A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 98, p. 403-413, 2010.
- PEREIRA e SILVA, M. C.; DIAS, A. C. F.; Van ELSAS, J. D.; SALLES, J. F. Spatial and temporal variation of archaeal, bacterial and fungal communities in agricultural soils. *PLoS One*, San Francisco, v. 7, n. 12, p. e51554, 2012.
- POWLSON, D. S.; PROOKES, P. C.; CHRISTENSEN, B. T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 19, n. 2, p. 159-164, 1987.
- RAAIJMAKERS, J.; MAZZOLA, M. Soil immune responses. *Science*, v. 352, I. 6292, p. 1392-1393. 2016.
- RAYMOND, J.; SIEFERT, J. L.; STAPLES, C. R.; BLANKENSHIP, R. E. The natural history of nitrogen fixation. *Molecular Biology and Evolution*, v. 21, n. 3, p. 541-554, 2004.
- REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; TEIXEIRA, K. R. S.; REIS, V. M. *Uso de ferramentas moleculares em estudos da diversidade de micro-organismos do solo*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2002. p. 33.
- RODRIGUES, J. L. M.; PELLIZARI, V. H.; MUELLER, R.; BAEK, K.; JESUS, E. C.; PAULA, F. S.; MIRZA, B.; HAMAOUJI JR., G. S.; TSAI, S. M.; FEIGL, B.; TIEDJE, J. M.; BOHANNAN, B. J. M.; NÜSSLEIN, K. Conversion of the Amazon rainforest to agriculture results in biotic homogenization of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 110, p. 988-993, 2013.
- ROSSWALL, T. The internal nitrogen cycle between microorganisms, vegetation and soil. *Ecological Bulletins*, v. 7, n. 22, p. 157-167, 1976.
- ROY, A. B. The synthesis and hydrolysis of sulfate esters. *Advances in Enzymology*, v. 22, p. 205-235, 1960.
- SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOFFEL, S.; SCHARF, S. J.; HIGUCHI, R.; HORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, v. 239, n. 4839, p. 487-491, 1988.
- SAIKI, R. K.; SCARF, F.; FALOONA, F. A.; MULLIS, K. B.; HORN, G. T.; ERLICH, H.A.; ARNHEIM, N. Enzymatic amplification

- of B-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, v. 230, p. 1350-1354, 1985.
- SALTON, J. C.; MERCANTE, F. M.; TOMAZI, M.; RETORE, M. Integrated crop-livestock system in tropical Brazil: Toward a sustainable production system. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 190, p. 70-79, 2014.
- SCHNURER, J.; ROSSWALL, T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 43, n. 6, p. 1256-1261, 1982.
- SCHORPP, Q.; SCHRADER, S. Dynamic of nematode communities in energy plant cropping systems. *European Journal of Soil Biology*, v. 78, p. 92-101, 2017.
- SHOEMAKER, W. R.; LOCEY, K. J.; LENNON, J. T. A macroecological theory of microbial biodiversity. *Nature Ecology & Evolution*, v. 1, n. 107, p. 1-6, 2017.
- SILVA, A. P.; BABUJIA, L. C.; FRANCHINI, J. C.; SOUZA, R. A.; HUNGRIA, M. Microbial biomass under various soil- and crop-management systems in short- and long-term experiments in Brazil. *Field Crops Research*, v. 119, p. 20-26, 2010.
- SILVA, A. S.; COLOZZI FILHO, A.; NAKATANI, A. S.; ALVES, S. J.; ANDRADE, D. S.; GUIMARÃES, M. F. Microbial characteristics of soils under an integrated crop-livestock system. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 39, p. 40-48, 2015.
- SILVA, R. F.; AQUINO, A. M.; MERCANTE, F. M.; GUIMARÃES, M. F. Macrofauna invertebrada do solo em sistema integrado de produção agropecuária no Cerrado. *Acta Scientiarum Agronomy*, v. 30, n. 5, p. 725-731, 2008.
- SINGH, J. S.; RAGHUBANSH, A. S.; SINGH, R. S.; SRIVASTAVA, S. C. Microbial biomass acts as a source of plant nutrients in dry tropical forest and savanna. *Nature*, v. 338, n. 6215, p. 499-500, 1989.
- SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. Micro-organismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental. Brasília: EMBRAPA, 1994. p. 142.
- SÖNDERSTRÖM, B. E. Vital staining of fungi in pure cultures and in soil with fluorescein diacetate. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 9, p. 59-63, 1977.
- SOUZA, E. D.; COSTA, S. E. V. G. A.; ANGHINONI, I.; LIMA, C. V. S.; CARVALHO, P. C. F.; MARTINS, A. P. Biomassa microbiana do solo em sistema de integração lavoura-pecuária em plantio direto, submetido a intensidades de pastejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 34, p. 79-88, 2010.
- SOUZA, E. D.; COSTA, S. E. V. G. A.; LIMA, C. V. S.; ANGHINONI, I.; MEURER, E. J.; CARVALHO, P. C. F. Carbono orgânico e fósforo microbiano em sistema de integração agricultura-pecuária submetido a diferentes intensidades de pastejo em plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, p. 1273-1282, 2008.
- SPARLING, G. P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Soil Research*, v. 30, p. 195-207, 1992.
- SPOHN, M.; KLAUS, K.; WANEK, W.; RICHTER, A. Microbial carbon use efficiency and biomass turnover times depending on soil depth – Implications for carbon cycling. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 96, p. 74-81, 2016.
- SRIVASTAVA, S. C.; SINGH, J. S. Microbial C, N and P in dry tropical forest soils: Effects of alternate land-uses and nutrient flux. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 23, n. 2, p. 117-124, 1991.
- STALEY, J.; KONOPKA, A. Measurement of in situ activities of non-photosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. *Annual Review of Microbiology*, v. 39, n. 1, p. 321-346, 1985.
- STRYER, L. Explorando os genes. In: *Bioquímica*. 4ª ed. New York, FREEMAN, W.H. & Company, 1996.
- SWIFT, M. J.; HEAL, O. W.; ANDERSON, J. M. Decomposition in terrestrial ecosystems. Oxford: Blackwell Scientific, 1979. 372 p.
- TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Arylsulfatase activity of soils. *Soil Science Society of America Journal*, v. 34, n. 2, p. 225-229, 1970.
- TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Assay of urease activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 4, p. 479-487, 1972.
- TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Use of  $\rho$ -nitrophenil phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 1, p. 301-307, 1969.
- TIAN, L.; DELL, E.; SHI, W. Chemical composition of dissolved organic matter in agroecosystems: Correlations with soil enzyme activity and carbon and nitrogen mineralization. *Applied Soil Ecology*, v. 46, p. 426-435, 2010.
- Van VLIET, P. C. J.; WEST, L. T.; HENDRIX, P. F.; COLEMAN, D. C. The influence of Enchytraeidae (Oligochaeta) on the soil porosity of small microcosms. *Geoderma*, v. 56, n. 1-4, p. 287-299, 1993.
- VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 19, n. 6, p. 703-707, 1987.
- WALL, D. H.; NIELSEN, U. N.; SIX, J. Soil biodiversity and human health. *Nature*, v. 528, p. 69-76, 2015.

WRIGHT, I. A.; TARAWALI, S.; BLUMMEL, M.; GERARD, B.; TEUFEL, N.; HERRERO, M. Integrating crops and livestock in subtropical agricultural systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 92, p. 1010-1015, 2012.

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