



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS - CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM MANEJO DO SOLO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DISPONIBILIDADE E
IMOBILIZAÇÃO MICROBIANA DE
FÓSFORO NO SOLO COM
APLICAÇÃO DE FERTILIZANTES
MINERAIS E ORGANOMINERAL**

FRANCISCO ALEXANDRE DE MORAIS

LAGES 2013

FRANCISCO ALEXANDRE DE MORAIS

**DISPONIBILIDADE E IMOBILIZAÇÃO MICROBIANA DE FÓSFORO NO SOLO
COM APLICAÇÃO DE FERTILIZANTES MINERAIS E ORGANOMINERAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Manejo do Solo.

Orientador: Luciano Colpo Gatiboni

Co-orientador: Paulo Roberto Ernani

LAGES, SC

2013

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária
Renata Weingärtner Rosa – CRB 228/14ª Região
(Biblioteca Setorial do CAV/UDESC)

Morais, Francisco Alexandre de
Disponibilidade e imobilização microbiana de fósforo no solo com
aplicação de fertilizantes minerais e organomineral / Francisco
Alexandre de Moraes; Orientador: Luciano Colpo Gatiboni –
Lages, 2013.
56f.

Inclui referências.
Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias /
UDESC.

1. Adsorção de fósforo. 2. Eficiência da fertilização fosfatada.
3. Fertilizantes fosfatados alternativos. 4. Biomassa microbiana do solo.
5. Resíduos da avicultura. I. Título.

CDD – 631.81

FRANCISCO ALEXANDRE DE MORAIS

**DISPONIBILIDADE E IMOBILIZAÇÃO MICROBIANA DE FÓSFORO NO SOLO
COM APLICAÇÃO DE FERTILIZANTES MINERAIS E ORGANOMINERAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Manejo do Solo.

Banca Examinadora

Orientador:

Professor Dr. Luciano Colpo Gatiboni
Universidade do Estado de Santa Catarina

Co-orientador:

Professor Dr. Paulo Roberto Ernani
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro:

Pesquisador Dr. Juliano Corulli Corrêa
EMBRAPA Suínos e Aves

LAGES, SC, 19 de fevereiro de 2013

Dedico este trabalho para minha família.

AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de registrar os meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram para a realização deste trabalho. Em especial para:

O professor Luciano Colpo Gatiboni que me aceitou como orientado mesmo sem me conhecer. Também pela consideração, paciência e orientação ao longo do curso.

A Universidade do Estado de Santa Catarina pela oportunidade de realizar o Mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de estudos concedida.

Os colegas que ajudaram decisivamente na condução do experimento e na realização das análises de laboratório: Gabriel Cunha, Bárbara Mafra, Vanessa Lazzaris, Hayana Jaines, Nathália Salvador, Isabela Pessenti, Jéssica Schafascheck e Jéssica Stringari.

Os colegas dos laboratórios da UDESC pelo suporte quando necessário (Marta Madeira, Greice Kelli Floriani, Cleber Rech, Adriano da Costa, entre outros).

Os professores e funcionários da UDESC pelo suporte quando necessário (Rogério Laus, Marcelo Moreira, Jackson Albuquerque, Álvaro Mafra, Mari Campos, Jaime Almeida, Cláudio Franco, Henrique Germano, entre outros).

Os vigilantes da UDESC pelo suporte quando necessário.

O professor Paulo Roberto Ernani e o pesquisador Juliano Corulli Corrêa pela participação na banca examinadora.

O meu amigo da Graduação, Alan Rommel, pela revisão dos trechos em inglês.

Muito obrigado!

“Nossa razão se obscurece ao considerarmos que as inúmeras estrelas fixas, que brilham no céu, não têm outro fim senão o de iluminar mundos onde reinam o pranto, a dor, e no melhor dos casos, só vinga o aborrecimento; pelo menos a julgar pela amostra que conhecemos.” (Arthur Schopenhauer)

RESUMO

MORAIS, Francisco Alexandre de. **Disponibilidade e imobilização microbiana de fósforo no solo com aplicação de fertilizantes minerais e organomineral**. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo - Área: Biologia e Fertilidade do Solo) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2013.

O uso de fertilizantes fosfatados alternativos e fenômenos biológicos podem retardar a adsorção de fósforo no solo, aumentando a eficiência da fertilização. Por isso, objetivou-se avaliar a disponibilidade e a imobilização microbiana de fósforo em um “Nitisol” com aplicação de fertilizantes minerais e organomineral. O experimento foi realizado em ambiente protegido com controle da temperatura do ar e da umidade do solo. O delineamento experimental foi organizado em esquema fatorial “5 x 4”, com cinco fontes de fósforo e quatro épocas de coleta das amostras. As fontes foram: testemunha (sem aplicação de fósforo), superfosfato triplo, diamônio fosfato, fosfato natural reativo de Arad e fertilizante organomineral. As unidades experimentais constaram de colunas de PVC preenchidas com solo, as quais foram incubadas e destruídas para análise nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após aplicação dos fertilizantes. Em cada coluna foram amostradas as camadas de 0-2,5, 2,5-5,0 e 5,0-15,0 cm abaixo da zona dos fertilizantes. Na camada de 0-2,5 cm, a aplicação dos fertilizantes fosfatados aumentou temporariamente a disponibilidade de P, resultando em uma variação temporal quadrática, exceto para fosfato natural que não apresentou padrão definido. Os picos do P disponível ocorreram aproximadamente aos 32 dias. Quanto à magnitude, as fontes de P se distribuíram nestes grupos: superfosfato triplo = diamônio fosfato = fertilizante organomineral > fosfato natural > testemunha. A imobilização microbiana de P apresentou variação temporal e magnitude similares ao P disponível (exceto para fosfato natural, que se destacou apenas quanto ao P microbiano). Os picos do P microbiano ocorreram aproximadamente aos 30 dias. Esses resultados foram corroborados pela dinâmica do carbono microbiano, da atividade enzimática, do carbono lábil e do pH do solo. Na camada de 2,5-5,0 cm, a disponibilidade de P aumentou sutil e temporariamente ao longo do tempo, enquanto o P microbiano decresceu (ambos sem distinção entre as fontes). Na camada de 5,0-15,0 cm, o P disponível não foi alterado e o P microbiano também decresceu (ambos sem distinção entre as fontes).

Palavras-chave: Adsorção de fósforo. Eficiência da fertilização fosfatada. Fertilizantes fosfatados alternativos. Biomassa microbiana do solo. Resíduos da avicultura.

ABSTRACT

MORAIS, Francisco Alexandre de. **Availability and microbial immobilization of phosphorus in soil with application of minerals and organomineral fertilizers**. 2013. 56 p. Dissertation (Master's degree in Soil Management - Area: Biology and Fertility of Soils) - Santa Catarina State University. Agricultural Sciences Graduate Program, Lages, 2013.

The use of alternative phosphate fertilizers and biological phenomena may slow the phosphorus adsorption in soil, increasing the fertilization efficiency. Therefore, the aim of this study was to evaluate the availability and microbial immobilization of phosphorus in a Nitisol with application of minerals and organomineral fertilizers. The experiment was conducted in a room with controlled air temperature and soil moisture. The experimental design was organized in a "5 x 4" factorial arrangement, with five phosphorus sources and four periods of sample collection. The sources were: control (without phosphorus application), triple superphosphate, diammonium phosphate, Arad reactive rock phosphate and industrialized organomineral fertilizer (according to Brazilian laws). The experimental units consisted of PVC columns filled with soil, which were incubated and destroyed for analysis in periods of 1, 20, 40 and 60 days after fertilizer application. In each column it were sampled the layers of 0 to 2.5, 2.5 to 5.0 and 5.0 to 15.0 cm below the fertilizers zone. In the layer of 0 to 2.5 cm, the application of phosphate fertilizers increased temporarily the P availability, resulting in quadratic temporal variation, except for rock phosphate that did not show a clear behavior. The peaks of available P occurred at approximately 32 days. In terms of magnitude, the phosphorus sources were distributed in these groups: triple superphosphate = diammonium phosphate = organomineral fertilizer > rock phosphate > control. The phosphorus immobilization by microbial biomass was representative, with magnitude and temporal variation similar to the available P (except for rock phosphate, which stood out only in microbial P). The peaks of microbial P occurred at approximately 30 days. These results were corroborated by the dynamic of microbial carbon, enzymatic activity, labile carbon and soil pH. In the layer of 2.5 to 5.0 cm, the P availability increased slightly and temporarily over time, while the microbial P decreased (both without distinction between the P sources). In the layer of 5.0 to 15.0 cm, the available P did not change and the microbial P also decreased (both without distinction between the P sources).

Key-words: Phosphorus adsorption. Phosphate fertilization efficiency. Alternative phosphate fertilizers. Soil microbial biomass. Poultry waste management.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação de uma unidade experimental. A coloração cinza indica o preenchimento com solo, as chaves indicam as dimensões das secções e a seta indica a localização dos fertilizantes. Em cada coluna foram amostradas as camadas de 0-2,5, 2,5-5,0 e 5,0-15,0 cm abaixo da zona dos fertilizantes 21

Figura 2 - P disponível no solo extraído por resina trocadora de ânions, na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$); NS = A interação entre “fontes” e “épocas” não foi significativa 25

Figura 3 - P disponível no solo extraído por resina trocadora de ânions, na camada de 2,5-5,0 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral) 26

Figura 4 - pH do solo na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$); NS = A interação entre “fontes” e “épocas” não foi significativa 29

Figura 5 - P contido na biomassa microbiana do solo, na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$); NS = A interação entre “fontes” e “épocas” não foi significativa 31

Figura 6 - C contido na biomassa microbiana do solo, na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$) 32

Figura 7 - P contido na biomassa microbiana do solo, nas camadas de 2,5-5,0 (A) e 5,0-15,0 (B) cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral) 34

Figura 8 - C contido na biomassa microbiana do solo, nas camadas de 2,5-5,0 (A) e 5,0-15,0 (B) cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral) 35

Figura 9 - Atividade de fosfatases ácidas no solo, na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$) 37

Figura 10 - Atividade de β -glucosidases no solo, na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$) 38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização dos fertilizantes fosfatados utilizados quanto aos teores de P_2O_5 e de C orgânico total	19
Tabela 2 - Caracterização química e física do solo antes da instalação do experimento ...	20

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 FORMAS DE FÓSFORO NO SOLO	15
2.2 ADSORÇÃO DE FÓSFORO NO SOLO	15
2.3 CARBONO CONTIDO NA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE FERTILIZANTES MINERAIS E ORGÂNICOS	16
2.4 IMOBILIZAÇÃO MICROBIANA DE FÓSFORO NO SOLO COM APLICAÇÃO DE FERTILIZANTES FOSFATADOS SOLÚVEIS	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 DISPONIBILIDADE DE P	24
4.2 IMOBILIZAÇÃO MICROBIANA DE P	30
5 CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS	41
APÊNDICES	47
ANEXOS	52

1 INTRODUÇÃO

A maioria dos solos brasileiros é muito intemperizada, apresentando grande capacidade de adsorção de fósforo. Em função da alta energia de ligação envolvida e da baixa reversibilidade da reação, a eficiência da fertilização fosfatada fica comprometida, principalmente em solos argilosos.

O uso de fertilizantes fosfatados alternativos e fenômenos biológicos podem retardar a adsorção, aumentando a eficiência da fertilização. A biomassa microbiana do solo pode exercer um papel decisivo nesse processo, em virtude do seu dinamismo na reciclagem de fósforo. Estudos mostram que após aplicação de fertilizantes fosfatados solúveis ocorre rápida imobilização microbiana do fósforo inorgânico adicionado. Depois da morte dos microrganismos, o fósforo microbiano é mineralizado e liberado gradativamente na solução do solo. Esse comportamento retarda a adsorção e aumenta a probabilidade de uso do nutriente pelas plantas, o que demonstra a capacidade dos microrganismos em competir com os colóides inorgânicos do solo pelo fósforo inorgânico adicionado.

A biomassa microbiana também pode obter fósforo de formas orgânicas através da degradação total da matéria orgânica ou da mineralização específica do fosfato orgânico, pela ação de enzimas extracelulares do tipo fosfatases. Graças a isso, os sistemas naturais são autossustentáveis sem aplicação de fertilizantes fosfatados, porém com o aumento da disponibilidade de fósforo inorgânico no solo diminui a importância das fosfatases.

O Brasil é o terceiro produtor e o primeiro exportador mundial de carne de frango. A avicultura gera anualmente uma quantidade proporcional de resíduos na forma de esterco, efluentes, vísceras, ossos, sangue, penas, aves mortas e cama. Esta última é o principal resíduo gerado, com produção anual estimada em torno de 5 a 6 milhões de toneladas. A sua utilização na fabricação do fertilizante organomineral é uma das opções de aproveitamento para reduzir os impactos ambientais.

No Brasil, têm crescido a produção e a utilização do fertilizante organomineral industrializado, cujo resíduo orgânico é granulado com os fertilizantes minerais para substituir o uso de material inerte, completando as formulações comerciais.

Como a influência desse tipo de fertilizante sobre os atributos do solo é pouco conhecida, as seguintes hipóteses são propostas e testadas neste estudo: a aplicação de fertilizante organomineral no solo aumenta temporariamente a disponibilidade e a imobilização microbiana de fósforo; a magnitude desse efeito é diferente da aplicação de fertilizantes minerais solúveis; e o efeito é restrito às adjacências dos grânulos do fertilizante.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a disponibilidade e a imobilização microbiana de fósforo em um “Nitisol” com aplicação de fertilizantes minerais e organomineral.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FORMAS DE FÓSFORO NO SOLO

O fósforo no solo está dividido nos grupos inorgânico e orgânico, em função do composto a que está ligado (GATIBONI, 2003).

O grupo inorgânico é encontrado nas formas estrutural (minerais primários), adsorvida, precipitada e solúvel; esta última em pequena quantidade (RHEINHEIMER et al., 2008a). O fósforo inorgânico pode estar adsorvido nos argilominerais do tipo 1:1, na matéria orgânica do solo através de pontes de cátions (compostos ternários) e, principalmente, nos óxidos de ferro e de alumínio. Também pode ser precipitado na solução do solo com cátions como ferro, alumínio, cálcio etc. (PARFITT, 1978).

O grupo orgânico é originário dos resíduos orgânicos adicionados no solo (principalmente dos vegetais), do tecido microbiano e dos produtos da sua decomposição. Grande parte do fósforo orgânico é encontrada na forma de fosfatos de inositol, fosfolipídios e ácidos nucleicos (RHEINHEIMER et al., 2000), mas a fração de maior dinamismo na nutrição das plantas em solos tropicais e subtropicais é aquela contida na biomassa microbiana (fósforo microbiano).

2.2 ADSORÇÃO DE FÓSFORO NO SOLO

A maioria dos solos brasileiros é muito intemperizada, apresentando caulinita e óxidos de ferro e de alumínio como principais constituintes da fração argila. Na condição de reação ácida, esses óxidos possuem carga líquida positiva, o que aumenta a capacidade de adsorver o ânion fosfato. A adsorção ocorre nos grupos funcionais aluminol, silanol e sítios ácidos de Lewis, tanto nos óxidos quanto nas bordas da caulinita (ERNANI, 2008).

O fosfato pode se ligar em formas monodentadas, em que um oxigênio do fosfato é ligado ao metal; bidentadas, em que dois oxigênios do fosfato são ligados ao metal; e binucleadas, em que dois oxigênios do fosfato são ligados a dois átomos do metal (FIXEN; GROVE, 1990; GOLDBERG; SPOSITO, 1985). A energia de ligação é crescente para os compostos monodentados, bidentados e binucleados, enquanto a possibilidade de dessorção do fosfato aumenta na ordem inversa. Adicionalmente, com o passar do tempo pode ocorrer o “envelhecimento” do fósforo adsorvido nos óxidos de ferro e de alumínio, através da

formação de compostos binucleados ou da penetração do fosfato nas imperfeições do cristal (BARROW, 1999; NOVAIS; SMYTH, 1999).

A representação matemática da adsorção pode ser realizada através de isotermas. Entre os modelos mais utilizados, destaca-se o de Langmuir (NOVAIS; SMYTH, 1999), que permite calcular a capacidade máxima de adsorção de fósforo do solo (CMAP).

Por causa dos processos de adsorção, vários estudos demonstraram que a CMAP é proporcional ao conteúdo de argila do solo, especialmente aqueles formados a partir de rochas básicas, nos quais os teores de ferro e de alumínio são os atributos que melhor se correlacionam com a CMAP (ALMEIDA et al., 2003; CORRÊA et al., 2011; FALCÃO; SILVA, 2004; HERNÁNDEZ; MEURER, 1998; VALLADARES et al., 2003).

Assim, em função da alta energia de ligação envolvida e da baixa reversibilidade da reação, a adsorção reduz a eficiência da fertilização fosfatada, principalmente em solos originalmente pobres em fósforo (RHEINHEIMER et al., 2008a).

2.3 CARBONO CONTIDO NA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE FERTILIZANTES MINERAIS E ORGÂNICOS

A biomassa microbiana desempenha um papel fundamental na manutenção da qualidade do solo, por estar envolvida em todos os processos bioquímicos que acontecem, incluindo a decomposição da matéria orgânica, a formação de húmus e a reciclagem de nutrientes. Levando-se em consideração que o crescimento e a atividade dos microrganismos dependem dos atributos edafoclimáticos, ambos podem ser utilizados como indicadores sensíveis das alterações ocorridas no solo, mesmo em curto prazo (GIL-SOTRES et al., 2005; LIN et al., 2004).

Diversos estudos foram realizados para avaliar a influência da aplicação de fertilizantes minerais e orgânicos sobre a biomassa microbiana do solo, em longo prazo. Alguns apresentam resultados discordantes, evidenciando o dinamismo e a imprevisibilidade dos microrganismos.

Por exemplo, Zhong e Cai (2007) observaram que a biomassa microbiana do solo aumentou após fertilização mineral comparada com a ausência de fertilização, ao longo de 13 anos. Entretanto, em pesquisa similar realizada por Kong et al. (2008), no mesmo intervalo de tempo, não foi observada diferença entre a fertilização mineral e a ausência de fertilização.

Enquanto isso, Birkhofer et al. (2008) verificaram que a biomassa microbiana do solo aumentou após fertilização orgânica comparada com a fertilização mineral, ao longo de 27

anos. Por outro lado, em estudo similar realizado por Fließbach et al. (2007), ao longo de 20 anos, não foi verificada diferença entre as fertilizações orgânica e mineral, e ambas não diferiram da ausência de fertilização.

Ao avaliar dois experimentos similares na Alemanha (100 anos) e na Hungria (41 anos), Böhme et al. (2005) observaram que a biomassa microbiana do solo e a atividade de β -glucosidases decresceram nesta ordem “fertilização orgânica > fertilização mineral > ausência de fertilização”, porém apenas no primeiro experimento. Complementando, as β -glucosidases são enzimas extracelulares relacionadas ao ciclo do carbono, estando presentes no solo em maiores quantidades em relação às α -glucosidases e às α - e β -galactosidases. Acredita-se que os produtos da hidrólise das β -glucosidases são importantes fontes de energia para os microrganismos do solo (TABATABAI, 1994).

De uma forma geral, a aplicação no solo de matéria orgânica e de nutrientes resulta em picos populacionais de microrganismos que utilizam substratos simples e prontamente disponíveis, porém ocorre declínio da população microbiana na medida em que os substratos e os nutrientes são consumidos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Salienta-se que esse comportamento é imprevisível em longo prazo, em razão da heterogeneidade das condições edafoclimáticas, aliada com a sensibilidade dos microrganismos, que respondem às mudanças de forma dinâmica (em curto prazo).

2.4 IMOBILIZAÇÃO MICROBIANA DE FÓSFORO NO SOLO COM APLICAÇÃO DE FERTILIZANTES FOSFATADOS SOLÚVEIS

O aumento do carbono da biomassa microbiana é acompanhado pelo acréscimo da imobilização microbiana de fósforo. Baseados na técnica de diluição isotópica com ^{33}P , alguns autores observaram que a baixa disponibilidade de fósforo no solo estimula a rápida imobilização microbiana após aplicação de fertilizantes fosfatados solúveis, inclusive esse comportamento pode ser considerado um fenômeno comum em solos tropicais e subtropicais muito intemperizados (BÜNEMANN et al., 2004 e 2012).

Com adição de fertilizante fosfatado solúvel, Conte et al. (2002) observaram que o fósforo da biomassa microbiana aumentou apenas com aplicação recente, sem efeito residual de fertilizações anteriores (provavelmente porque o fósforo já foi adsorvido pelos colóides inorgânicos do solo). Segundo os autores, a imobilização ocorreu pela sincronia da fertilização recente com o período de maior disponibilidade de matéria orgânica pela deposição de resíduos orgânicos do sistema plantio direto. Chauhan et al. (1979) também

verificaram que a adição de gramínea, celulose e fertilizante fosfatado no solo aumentou o fósforo microbiano, com decréscimo ao longo do tempo, demonstrando que o efeito é passageiro. Resultados semelhantes foram reportados por Martinazzo et al. (2007).

Ainda sobre o estudo de Conte et al. (2002), a atividade de fosfatases ácidas não reduziu pela aplicação de doses crescentes de fertilizante fosfatado solúvel. Os autores atribuíram esse comportamento à alta afinidade do fósforo com os colóides inorgânicos do solo, principalmente os óxidos de ferro e de alumínio, que exercem efeito estimulante sobre a liberação de fosfatases ácidas mesmo com aplicação de fertilizantes fosfatados. Todavia, pode ocorrer aumento da atividade da enzima com a diminuição do fósforo disponível no solo (GATIBONI et al., 2008).

Confirmando o dinamismo dos microrganismos na reciclagem de fósforo, Rheinheimer et al. (2008b) observaram que a simples roçada da pastagem nativa aumentou a imobilização pela biomassa, independentemente do histórico de fertilização do solo e do tipo de fertilizante fosfatado utilizado. Contudo, o estímulo foi maior quando houve fertilização.

Como a produção e a utilização do fertilizante organomineral industrializado têm aumentado, visando ao aproveitamento dos resíduos da produção de carne de frango, se faz necessário conhecer os impactos relacionados com a sua aplicação no solo, como por exemplo, qual o efeito sobre a disponibilidade e a imobilização microbiana de fósforo? Levando-se em consideração a escassez de pesquisas sobre fertilizante organomineral, esse assunto merece ser estudado.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi baseado no monitoramento de alguns atributos químicos, biológicos e bioquímicos do solo, em diferentes épocas após aplicação de fertilizantes fosfatados.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, organizado em esquema fatorial “5 x 4”, com cinco fontes de fósforo e quatro épocas de coleta das amostras, com quatro repetições. As fontes foram: testemunha (sem aplicação de fósforo), superfosfato triplo, diamônio fosfato, fosfato natural reativo de Arad e fertilizante organomineral industrializado (segundo as especificações da legislação brasileira; com formulação comercial de “6-14-8” (NPK), composto por nitrato de amônio, cloreto de potássio, diamônio fosfato, superfosfato triplo e cama de aviário). Parte das unidades experimentais foi destruída para coleta das amostras nas épocas: 1, 20, 40 e 60 dias após aplicação dos fertilizantes (não foram realizadas avaliações repetidas no tempo).

As recomendações de fertilização utilizadas foram preconizadas pela Comissão de Química e Fertilidade do Solo para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (CQFS-RS/SC, 2004). A mesma dose de fósforo ($1,54 \text{ mg cm}^{-2}$ de P_2O_5) foi fixada para todas as fontes (com exceção da testemunha), com base no conteúdo de fósforo disponível no solo extraído pela solução de Mehlich-1 (MEHLICH, 1953) e na expectativa de produtividade de grãos para a cultura do milho de 6.000 kg ha^{-1} . As quantidades dos fertilizantes foram calculadas conforme os seus teores de P_2O_5 total (Tabela 1). Tendo como referência o fertilizante organomineral, fixaram-se as doses de nitrogênio ($0,66 \text{ mg cm}^{-2}$ de N) e de potássio ($0,88 \text{ mg cm}^{-2}$ de K_2O) para as outras fontes, inclusive a testemunha. Nitrato de amônio e cloreto de potássio foram utilizados para suprir N e K, respectivamente.

Tabela 1 - Caracterização dos fertilizantes fosfatados utilizados quanto aos teores de P_2O_5 e de C orgânico total.

Fontes de fósforo	% de C orgânico total	% de P_2O_5		
		Solúvel em água*	Solúvel em ácido cítrico (2%)*	Total
Superfosfato triplo	- x -	45	48	49
Diamônio fosfato	- x -	39	44	47
Fosfato natural reativo de Arad	- x -	0	12	30
Fertilizante organomineral	8	6	11	16

Fonte: produção do próprio autor

* Relação de 1:100; As análises foram realizadas segundo as metodologias de Silva (2009)

O solo utilizado foi retirado da camada de 0-10 cm de profundidade de um “Nitisol” (FAO, 2006) cultivado com milho em sistema plantio direto, localizado no município de Lages-SC. A sua secagem foi realizada ao ar livre, seguida de peneiramento em malha de 2 mm. A caracterização química e física do solo antes da instalação do experimento está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização química e física do solo antes da instalação do experimento.

Caracterização química									
pH	CE	P _{RTA}	P _{M1}	CMAP	Ca ²⁺	Mg ²⁺	(H+Al)	CTC pH 7	MO
(H ₂ O)	μS cm ⁻¹	-----	mg dm ⁻³	-----	-----	cmol _c dm ⁻³	-----	-----	g kg ⁻¹
5,1	171,57	29,10	2,2	1060	7,09	4,14	3,90	15,13	45,8
Caracterização física									
Ds	Dp	P _{Total}	CC	Areia (2-0,05 mm)	Silte (0,05-0,002 mm)	Argila (<0,002 mm)			
g cm ⁻³	g cm ⁻³	%	g g ⁻¹	-----	g kg ⁻¹	-----			
0,80	2,65	69,81	0,42	303	286	411			

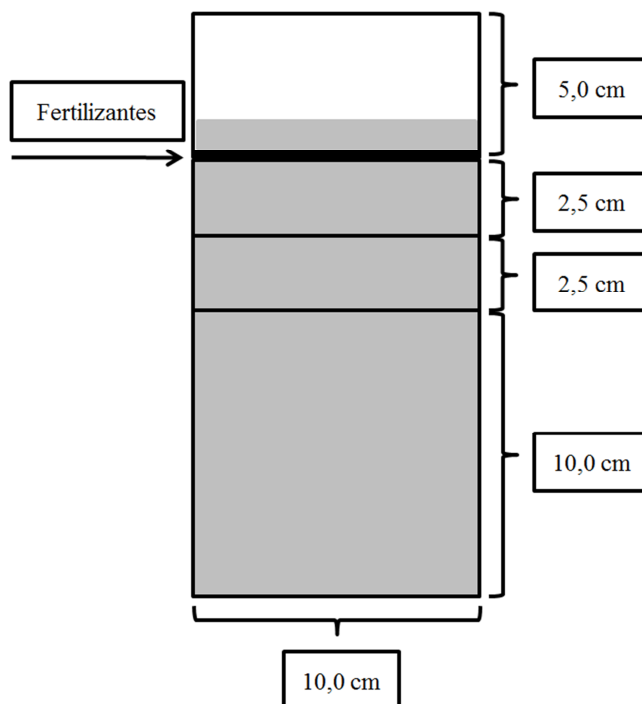
Fonte: produção do próprio autor

CE = condutividade elétrica; P_{RTA} = fósforo disponível extraído por resina trocadora de ânions; P_{M1} = fósforo disponível extraído pela solução de Mehlich-1; CMAP = capacidade máxima de adsorção de fósforo, baseada no estudo de Oliveira (2010); (H+Al) = Acidez potencial a pH 7; CTC = capacidade de troca de cátions a pH 7; MO = matéria orgânica; Ds = densidade do solo; Dp = densidade de partículas; P_{Total} = porosidade total do solo; CC = umidade gravimétrica na capacidade de campo; As proporções de areia, silte e argila foram determinadas pela metodologia da pipeta

O experimento foi realizado entre março e abril de 2012 em uma sala fechada com as dimensões de 2,1 x 1,8 x 2,2 m (comprimento x largura x altura) (Apêndice A), localizada na Universidade do Estado de Santa Catarina, no município de Lages. A temperatura foi controlada com ar condicionado no verão e aquecedor a partir da segunda semana do outono (início das baixas temperaturas). Durante o período experimental, a temperatura mínima média foi de 18°C, enquanto a máxima foi de 24°C.

Cada unidade experimental foi constituída de uma coluna, formada por quatro secções de cano de PVC com 10 cm de diâmetro e alturas de 10, 2,5, 2,5 e 5 cm. Nesta ordem, as secções foram justapostas e unidas por fita adesiva externamente (Figura 1). No fundo da secção inferior (10,0 cm de altura) foi colada uma tela de poliéster (malha de 500 μm) e sobre esta foi adicionada uma folha de papel filtro quantitativo, a fim de compor o fundo capaz de suportar o solo, mas que permitisse os fluxos de água ascendente e descendente. As colunas foram preenchidas totalmente com solo nas três secções inferiores e, na sequência, os fertilizantes (previamente moídos e peneirados em malha de 1 mm) foram distribuídos no fundo da secção superior (5,0 cm de altura), entre duas folhas de papel filtro quantitativo,

sendo colocada uma camada de 1 cm de solo sobre os fertilizantes (Figura 1). Em cada unidade experimental foram utilizados aproximadamente 1.100 g de solo e foram amostradas as camadas de 0-2,5, 2,5-5,0 e 5,0-15,0 cm abaixo da zona dos fertilizantes (Figura 1).



Fonte: produção do próprio autor

Figura 1 - Representação de uma unidade experimental. A coloração cinza indica o preenchimento com solo, as chaves indicam as dimensões das secções e a seta indica a localização dos fertilizantes. Em cada coluna foram amostradas as camadas de 0-2,5, 2,5-5,0 e 5,0-15,0 cm abaixo da zona dos fertilizantes.

Depois da montagem, as colunas foram acondicionadas em ambiente protegido e mantidas suspensas em estrados de madeira sobre bandejas plásticas (Apêndice B). A localização das unidades experimentais foi alterada diariamente, atendendo às exigências do delineamento. O solo foi mantido com umidade próxima a 90% da capacidade de campo, através de pesagens diárias das colunas e reposição da umidade perdida com água destilada. As plantas daninhas emergidas foram retiradas todos os dias.

Nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após aplicação dos fertilizantes, parte das colunas foi destruída e o solo de cada secção foi amostrado para análise. Os atributos considerados mais importantes foram avaliados nas camadas de 0-2,5, 2,5-5,0 e 5,0-15,0 cm: fósforo disponível extraído por resina trocadora de ânions, fósforo e carbono da biomassa microbiana. Os

atributos considerados secundários foram avaliados exclusivamente na camada de 0-2,5 cm: carbono lábil, pH e atividade das enzimas fosfatases ácidas e β -glucosidases.

O fósforo disponível extraído por resina em lâminas foi determinado segundo Gatiboni (2003): amostras de 0,5 g de solo foram submetidas à extração com resina trocadora de ânions saturada de HCO_3^- . O fósforo foi determinado segundo Murphy e Riley (1962).

Na análise do fósforo da biomassa microbiana, foi utilizada a metodologia da fumigação-extração de Brookes et al. (1982), que consiste em destruir a membrana celular dos microrganismos com CHCl_3 , seguindo-se a extração do fósforo por uma solução de NaHCO_3 0,5 mol L^{-1} a pH 8,5, o qual foi determinado segundo Dick e Tabatabai (1977). O conteúdo de fósforo da biomassa microbiana foi calculado pela equação:

$$P_{\text{mic}} = \frac{50 \times \frac{\text{conjunto A} - \text{conjunto B}}{\text{conjunto C} - \text{conjunto B}}}{0,4}$$
, em que os conjuntos A, B e C representam as amostras fumigadas, não fumigadas e não fumigadas + 50 mg L^{-1} de fósforo, respectivamente. O fator “0,4” foi utilizado assumindo-se que apenas 40% do fósforo da biomassa microbiana são extraíveis pela técnica, enquanto o fator “50 / (conjunto C - conjunto B)” é o ajustamento da capacidade de adsorção do solo.

Para análise do carbono da biomassa microbiana, foi utilizada a metodologia da fumigação-extração de Vance et al. (1987), que consiste em destruir a membrana celular dos microrganismos com CHCl_3 , seguindo-se a extração do carbono por uma solução de K_2SO_4 0,5 mol L^{-1} a pH 6,5, o qual foi determinado por oxidação úmida com $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,066 mol L^{-1} em meio ácido. O excesso de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ foi titulado com $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,033 mol L^{-1} . O conteúdo de carbono da biomassa microbiana foi calculado pela diferença de C entre as amostras fumigadas e não fumigadas multiplicada pelo fator de correção (kc^{-1}) 0,33, assumindo-se que apenas 33% do carbono da biomassa microbiana são extraíveis pela técnica.

A metodologia para avaliar a atividade de fosfatases ácidas no solo é baseada na determinação do conteúdo de p-nitrofenol (cor amarela) liberado durante a incubação das amostras com o substrato p-nitrofenilfosfato de sódio (incolor), segundo Tabatabai (1994) e Figueiredo et al. (2010) (Anexo A). Similarmente, a metodologia para avaliar a atividade de β -glucosidases no solo é baseada na determinação do conteúdo de p-nitrofenol (cor amarela) liberado, porém durante a incubação das amostras com o substrato p-nitrofenil- β -D-glucopiranosídeo (incolor), segundo Tabatabai (1994) e Figueiredo et al. (2010) (Anexo B).

Na análise do carbono lábil foi determinada a fração de maior labilidade (F1) do fracionamento de carbono oxidável em gradiente ácido proposto por Chan et al. (2001), que é uma adaptação da metodologia de Walkley e Black (1934). Amostras de 1 g de solo foram

pesadas em erlenmeyers de 250 mL, sendo o conteúdo de carbono determinado por oxidação úmida com $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $0,167 \text{ mol L}^{-1}$ em meio ácido. O excesso de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ foi titulado com $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

O pH do solo foi obtido através da medição eletroquímica de íons H^+ na solução do solo, por meio de eletrodo combinado imerso em suspensão solo/água destilada na proporção 1:2,5 (SILVA, 2009).

Para a interpretação dos dados foi realizada análise de variância (teste F) com a utilização do software SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011). Quando necessário, o teste de regressão foi aplicado para o fator “épocas de coleta das amostras”, enquanto o teste de agrupamento de Scott-Knott foi aplicado para o fator “fontes de fósforo” (SCOTT; KNOTT, 1974), a 5% de probabilidade de erro. Para fósforo e carbono da biomassa microbiana e fósforo disponível, cada camada foi considerada isoladamente. Na escolha dos modelos mais adequados entre aqueles com significância estatística, utilizou-se o princípio da parcimônia, no qual é preferível o ajuste de menor grau. O fluxo anual de fósforo através da biomassa foi calculado pela divisão entre o P imobilizado e o tempo médio de renovação da população microbiana, considerando uma taxa de 80% para ambientes tropicais e subtropicais (SRIVASTAVA; SINGH, 1991).

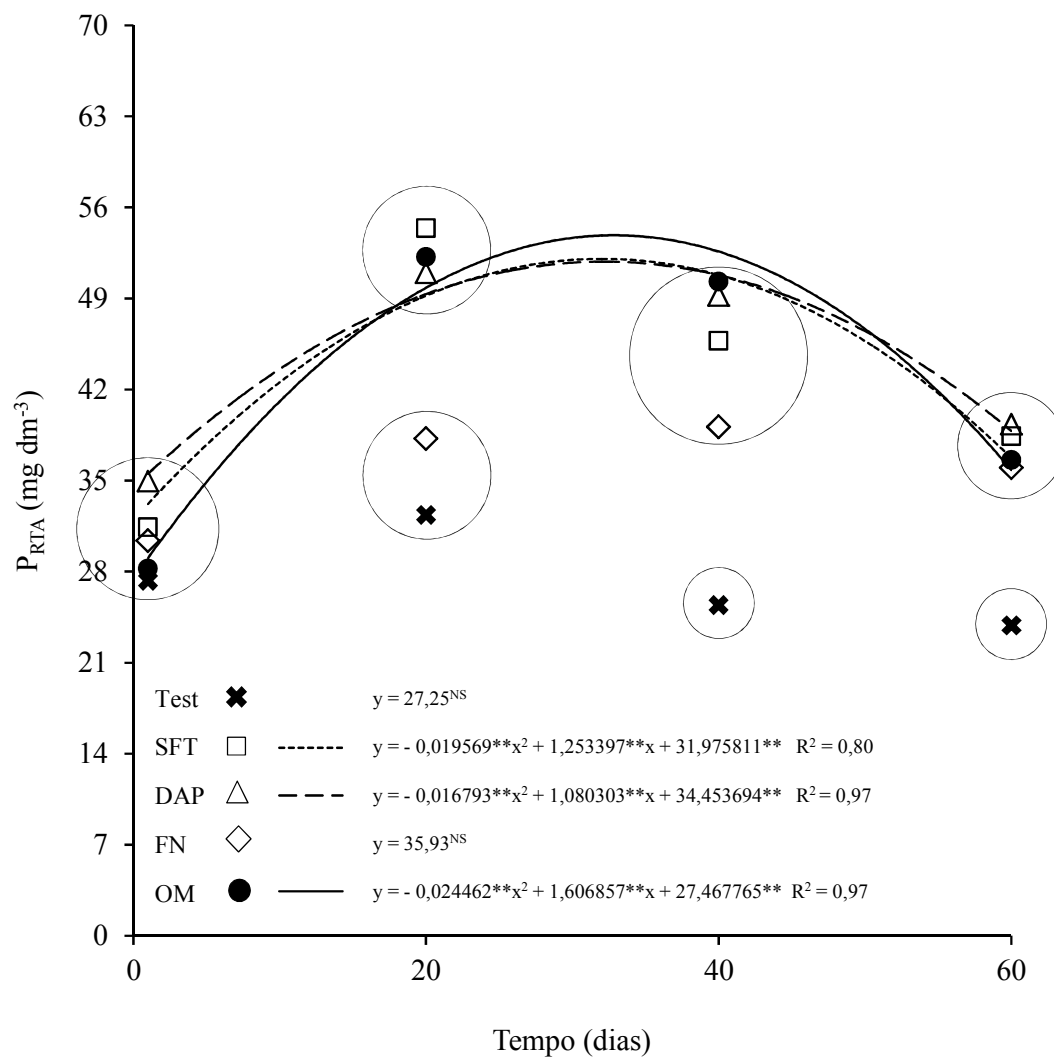
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DISPONIBILIDADE DE P

As fontes de P, as épocas de coleta das amostras e a interação entre “fontes” e “épocas” influenciaram o P disponível na camada de 0-2,5 cm (Apêndice C). A variação temporal foi quadrática (concavidade da parábola voltada para baixo) nos casos do superfosfato triplo, do diamônio fosfato e do fertilizante organomineral (Figura 2). Na camada de 2,5-5,0 cm, a disponibilidade de P foi afetada somente pelas épocas de coleta das amostras, apresentando variação temporal similar em relação à camada sobrejacente (Apêndice C; Figura 3). Na camada de 5,0-15,0 cm, o P disponível não foi influenciado pelas fontes de variação (Apêndice C).

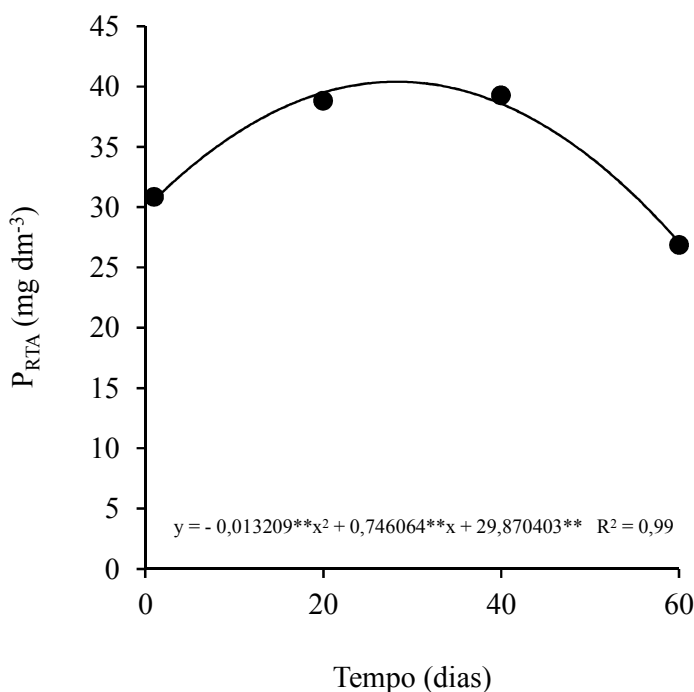
Os picos estimados do P disponível na camada de 0-2,5 cm apresentaram os seguintes valores, em mg dm^{-3} : 52 aos 32 dias para superfosfato triplo; 52 aos 32 dias para diamônio fosfato; e de 54 aos 33 dias para fertilizante organomineral (Figura 2). A disponibilidade de P não diferiu entre as fontes no primeiro dia após a aplicação. Aos 20 dias, as fontes de P se distribuíram em dois grupos: superfosfato triplo = diamônio fosfato = fertilizante organomineral > fosfato natural = testemunha. Aos 40 e 60 dias, também se distribuíram em dois grupos, porém com uma mudança sutil: superfosfato triplo = diamônio fosfato = fertilizante organomineral = fosfato natural > testemunha (Figura 2).

O efeito das fontes sobre a disponibilidade de P foi restrito às adjacências dos grânulos, essencialmente na camada de 0-2,5 cm. Destaca-se que as amostras de solo foram coletadas abaixo da zona de aplicação dos fertilizantes, ou seja, foram estimadas apenas as quantidades solubilizadas e difundidas para as camadas subjacentes. Salienta-se que o P no solo se movimenta principalmente por difusão, que é influenciada pela disponibilidade do nutriente, pela distância a ser percorrida e pela interação do P com os colóides inorgânicos do solo (PARFITT, 1989). Este último fator é o responsável pela pequena difusão do P em solos muito intemperizados, conforme pode ser verificado com o “Nitisol” do presente estudo, o qual possui alta capacidade máxima de adsorção de P (Tabela 2). Em consequência disso, a fertilização fosfatada é um dos principais fatores limitantes da fertilidade do solo em ambientes tropicais e subtropicais.



Fonte: produção do próprio autor

Figura 2 - P disponível no solo extraído por resina trocadora de ânions, na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$); NS = A interação entre “fontes” e “épocas” não foi significativa.



Fonte: produção do próprio autor

Figura 3 - P disponível no solo extraído por resina trocadora de ânions, na camada de 2,5-5,0 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral).

Inicialmente, o solo apresentava status “alto” (entre 20,1 e 40,0 mg dm^{-3}) quanto às faixas de interpretação dos teores de P disponível extraído por resina trocadora de ânions (CQFS-RS/SC, 2004). A aplicação de superfosfato triplo, de diamônio fosfato e de fertilizante organomineral aumentou temporariamente a disponibilidade do P na camada de 0-2,5 cm, inclusive alterando o status do solo para “muito alto” (> 40,0 mg dm^{-3}). Para fosfato natural e testemunha, o status não foi alterado ao longo do tempo.

Depois dos picos do P disponível para superfosfato triplo, diamônio fosfato e fertilizante organomineral, aproximadamente aos 32 dias, os valores decresceram rapidamente, evidenciando a influência negativa da adsorção de P no solo sobre a eficiência da fertilização fosfatada ao longo do tempo. Aos 60 dias, a disponibilidade de P já estava próxima da condição inicial do solo.

A matéria orgânica contida no fertilizante organomineral foi insuficiente para diferenciá-lo das fontes minerais solúveis (superfosfato triplo e diamônio fosfato) quanto ao P disponível. Esperava-se que a presença de ácidos orgânicos no fertilizante organomineral

diminuísse a adsorção de P no solo, em virtude da competição com o fosfato pelos sítios de adsorção (ANDRADE et al., 2003; HAYNES, 1984), o que refletiria no aumento da disponibilidade de P, pelo menos nas adjacências dos grânulos. No entanto, essa hipótese não se confirmou. O aumento do pH do solo (Figura 4) com aplicação de fertilizante organomineral não atingiu magnitude suficiente para interferir nos valores do P disponível.

A aplicação de fosfato natural resultou em uma variação temporal sem padrão definido para o P disponível, com menor valor médio aos 20 dias em relação aos demais fertilizantes fosfatados. Os valores só ficaram similares a partir dos 40 dias, coincidindo com o declínio da disponibilidade de P para os fertilizantes solúveis. Esse comportamento foi em razão das características do próprio fosfato natural (solubilidade média em ácido cítrico e nula em água, Tabela 1) e das condições de solo desfavoráveis para a solubilização (ausência do fator “dreno-planta”, P disponível alto e cálcio trocável alto, Tabela 2) (NOVAIS et al., 2007). Tudo isso tem como consequência um maior efeito residual em detrimento da eficiência em curto prazo.

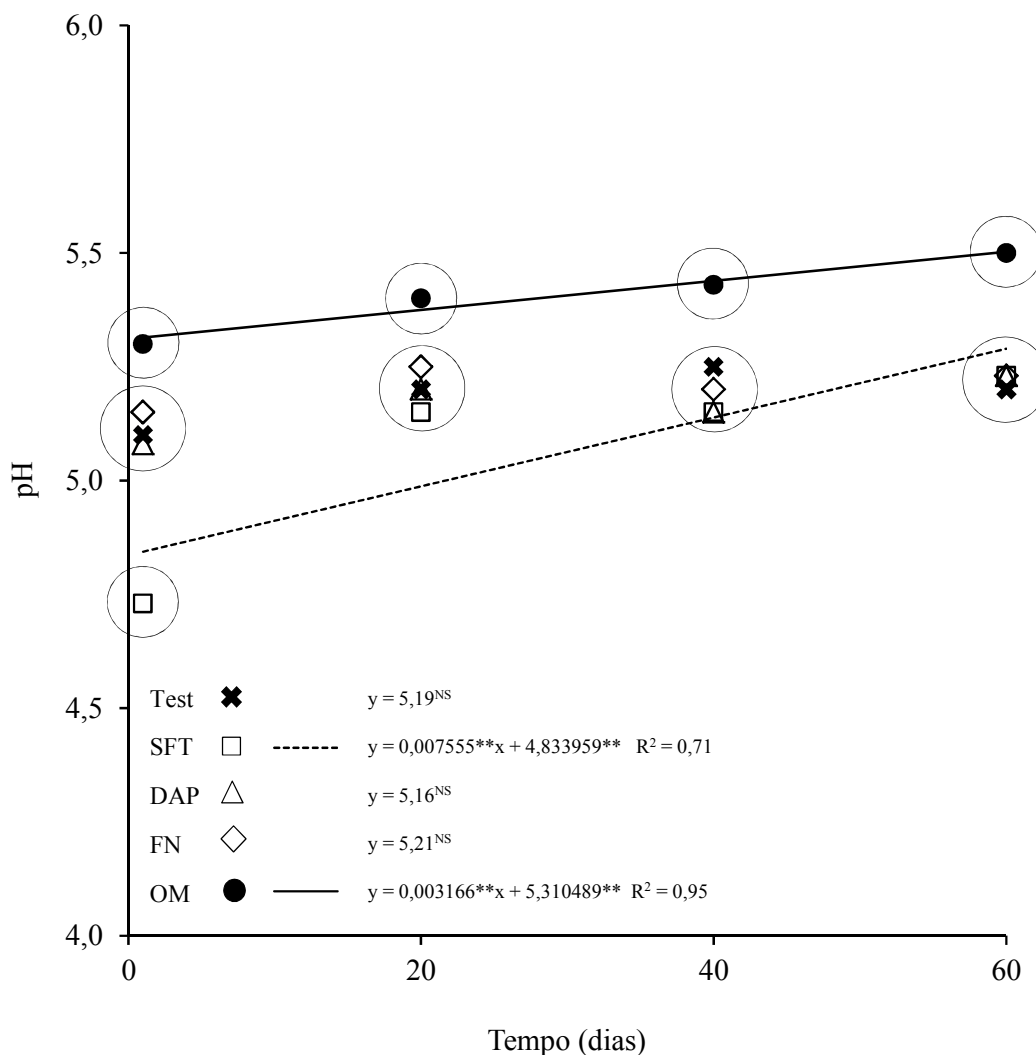
Esses resultados corroboram o senso comum de que os fosfatos naturais são fontes de P de menor solubilidade em relação aos fosfatos solúveis, porém disponibilizam em curto espaço de tempo parte do P que possuem em formas solúveis (12% solúvel em ácido cítrico, Tabela 1). Assim, sua influência sobre a disponibilidade de P, determinada pela metodologia da resina trocadora de ânions, acarretou em teores disponíveis intermediários entre a testemunha e os fosfatos solúveis aos 20 dias, e comportamento similar aos fosfatos solúveis nas épocas de 40 e 60 dias. Provavelmente, essa semelhança não foi decorrente de uma maior solubilização do fosfato natural, mas do processo de adsorção no solo do P liberado pelos fosfatos solúveis, como observado por Oliveira (2010) em solo similar ao deste estudo.

Sugere-se que a variação temporal do P disponível na camada de 2,5-5,0 cm, atingindo pico de 40 mg dm^{-3} aos 28 dias (Figura 3), foi em virtude da pequena mobilização do nutriente em profundidade nas parcelas com aplicação de P, porém de forma irregular, uma vez que a testemunha e os demais fertilizantes fosfatados não diferiram entre si. Nesse caso, a ausência de diferença estatística significativa pode indicar simplesmente que não há evidências suficientes para afirmar que houve efeito das fontes. Na camada de 5,0-15,0 cm, a disponibilidade de P não foi influenciada pelas fontes, provavelmente pela pequena difusão de P no solo, conforme já foi comentada. Os valores variaram de 30 a 43 mg dm^{-3} (dados não mostrados). O status do solo quanto às faixas de interpretação dos teores de P disponível não foi alterado ao longo do tempo nas camadas de 2,5-5,0 e 5,0-15,0 cm.

O acúmulo de P restrito aos primeiros centímetros adjacentes à zona de aplicação dos fertilizantes, quando não é realizada incorporação com o solo, alerta para o risco de superestimação da disponibilidade de P nas camadas subjacentes, em decorrência de amostragens malfeitas. Resultados semelhantes foram observados por Ernani et al. (2001), os quais ressaltam a importância da amostragem de solo em pequenas profundidades, capaz de revelar diferenças que não aparecem quando são avaliadas camadas mais espessas.

O pH do solo na camada de 0-2,5 cm foi influenciado pelas fontes de P, pelas épocas de coleta das amostras e pela interação entre “fontes” e “épocas” (Apêndice D). A variação temporal foi linear crescente para superfosfato triplo e fertilizante organomineral. As outras fontes de P não apresentaram padrão definido (Figura 4). A diminuição do pH já no primeiro dia após aplicação de superfosfato triplo foi em decorrência da liberação de íons H^+ durante o processo de dissolução (ERNANI et al., 2001), sendo que a condição inicial foi restabelecida já na segunda época de avaliação. O aumento do pH com aplicação de fertilizante organomineral (esta fonte possui cama de aviário na sua composição) foi em virtude da presença de carbonatos oriundos da alimentação das aves (MONTALVO GRIJALVA et al., 2010) e de NH_3 , a qual se transforma em NH_4^+ consumindo íons H^+ (SOUZA et al., 1995).

Diferentemente do presente estudo, Ernani et al. (2001) observaram que a aplicação de superfosfato triplo manteve o pH do solo mais baixo durante um período de 32 dias, assim como a aplicação de diamônio fosfato manteve o pH mais alto pelo mesmo período (esse comportamento foi atribuído ao consumo de íons H^+ pela transformação de moléculas de HPO_4^{2-} em $H_2PO_4^-$). Entretanto, nesse caso, o solo foi misturado com uma quantidade grande de fertilizantes (200 g de SFT ou DAP por kg de solo), exatamente para obter valores mensuráveis em um volume expressivo de solo. Em condições normais, as alterações do pH ocorrem nos períodos iniciais após aplicação dos fertilizantes, com pequena magnitude e nas adjacências dos grânulos.



Fonte: produção do próprio autor

Figura 4 - pH do solo na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$); NS = A interação entre “fontes” e “épocas” não foi significativa.

O C lábil do solo na camada de 0-2,5 cm não foi afetado pelas fontes de variação (Apêndice D). Os valores variaram de 4,0 a 10,8 g kg⁻¹ (dados não mostrados). Supõe-se que a metodologia utilizada, embora avalie apenas o C lábil, foi insensível para detectar diferença entre frações de C com maior labilidade, justamente as mais importantes para o crescimento da biomassa microbiana do solo. Apesar disso, acredita-se que a matéria orgânica contida no fertilizante organomineral é insuficiente para diferenciá-lo das fontes minerais solúveis

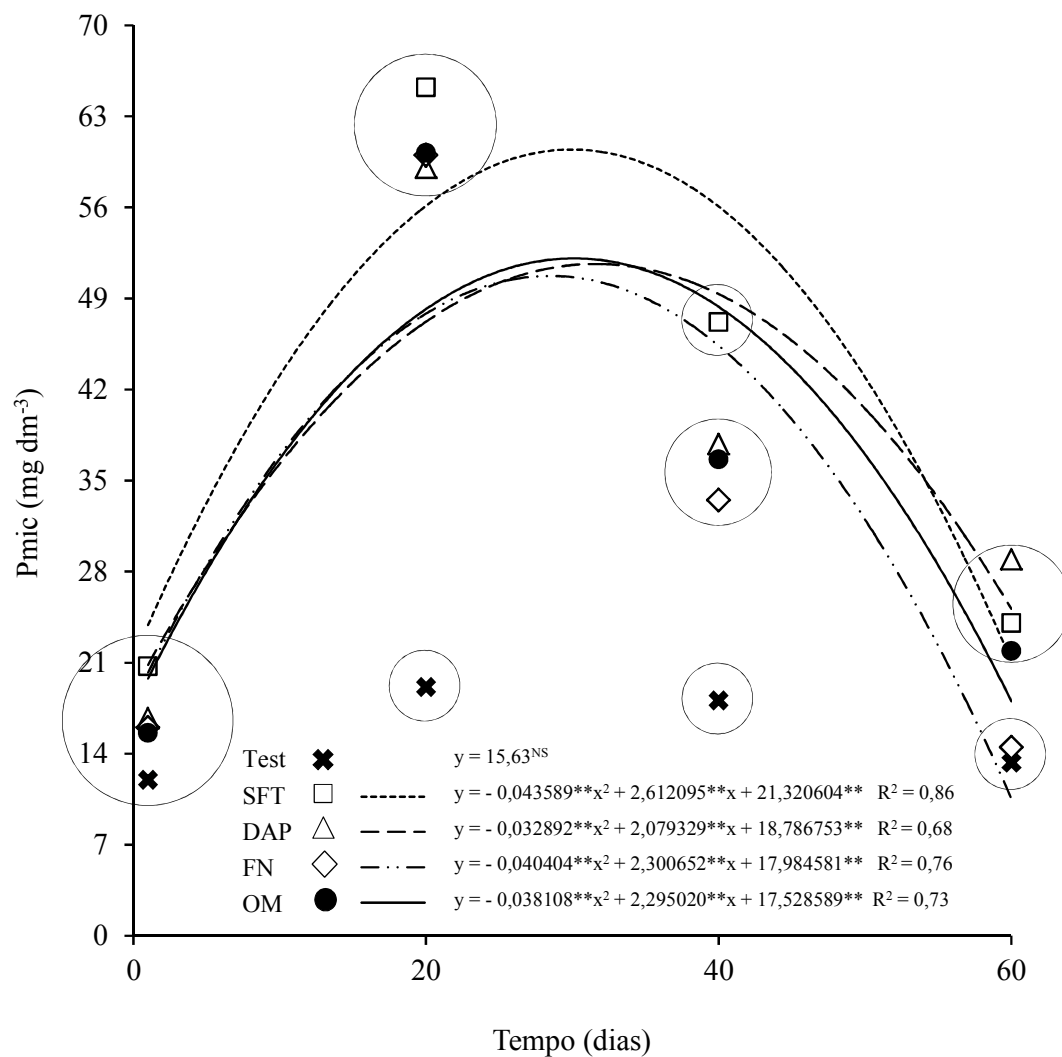
(superfosfato triplo e diamônio fosfato) quanto ao conteúdo de C lábil do solo, independentemente da metodologia empregada.

4.2 IMOBILIZAÇÃO MICROBIANA DE P

As fontes de P, as épocas de coleta das amostras e a interação entre “fontes” e “épocas” influenciaram o fósforo (P_{mic}) e o carbono (C_{mic}) da biomassa microbiana na camada de 0-2,5 cm (Apêndice C). Ambos apresentaram variação temporal quadrática (concavidade da parábola voltada para baixo), com exceção do P_{mic} na testemunha (Figuras 5 e 6).

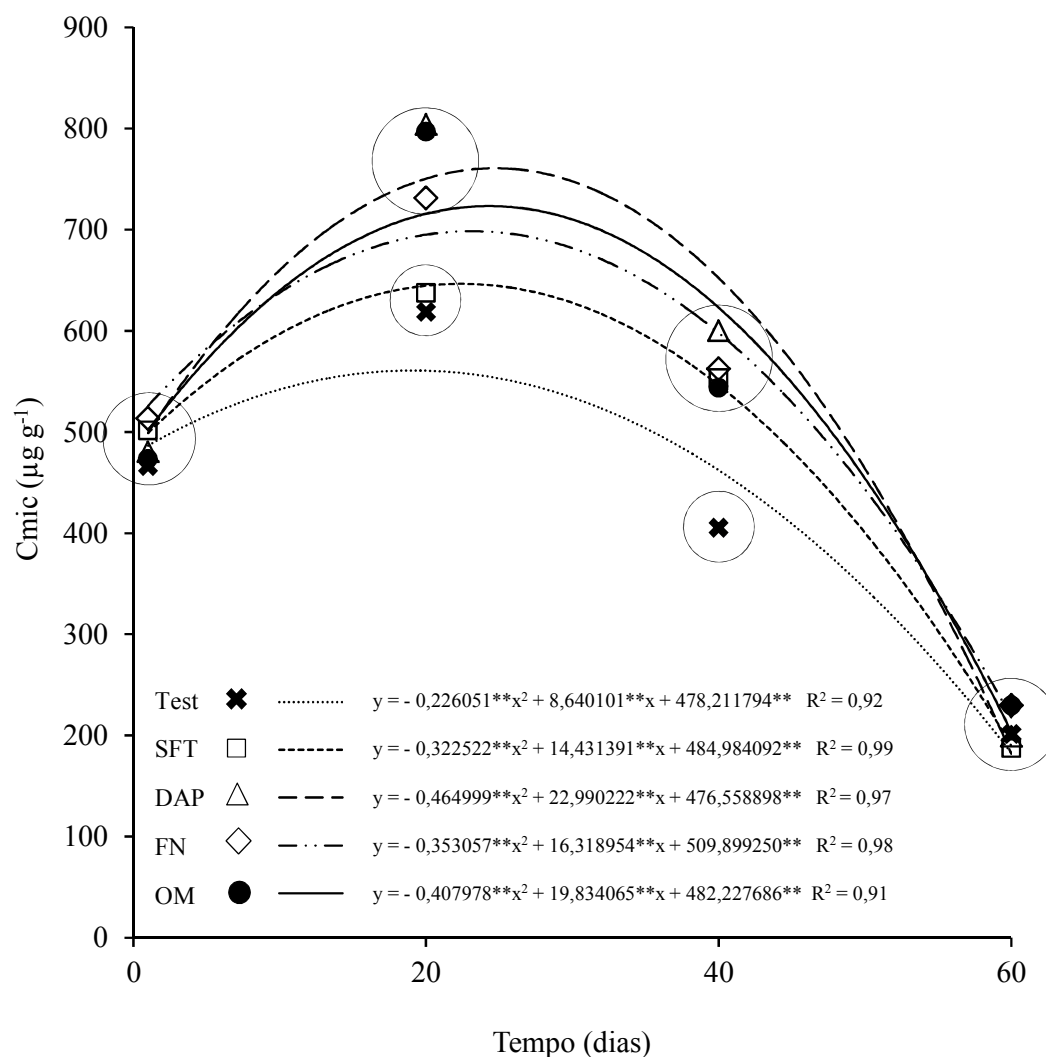
Quanto à magnitude, os picos estimados do P_{mic} foram similares em relação ao P disponível (com exceção do fosfato natural), apresentando os seguintes valores, em $mg\ dm^{-3}$: 60 aos 30 dias para superfosfato triplo; 52 aos 32 dias para diamônio fosfato; 51 aos 28 dias para fosfato natural; e de 52 aos 30 dias para fertilizante organomineral (Figura 5). O P_{mic} não diferiu entre as fontes no primeiro dia após a aplicação. Aos 20 dias, as fontes de P se distribuíram em dois grupos: superfosfato triplo = diamônio fosfato = fosfato natural = fertilizante organomineral > testemunha. Aos 40 dias, se distribuíram em três grupos: superfosfato triplo > diamônio fosfato = fosfato natural = fertilizante organomineral > testemunha. Aos 60 dias, se distribuíram em dois grupos: superfosfato triplo = diamônio fosfato = fertilizante organomineral > fosfato natural = testemunha (Figura 5).

Os picos estimados do C_{mic} apresentaram os seguintes valores, em $\mu g\ g^{-1}$: 561 aos 19 dias para testemunha; 646 aos 22 dias para superfosfato triplo; 761 aos 25 dias para diamônio fosfato; 698 aos 23 dias para fosfato natural; e de 723 aos 24 dias para fertilizante organomineral (Figura 6). O C_{mic} não diferiu entre as fontes de P na primeira e na última avaliação. Aos 20 dias, as fontes de P se distribuíram em dois grupos: diamônio fosfato = fosfato natural = fertilizante organomineral > superfosfato triplo = testemunha. Aos 40 dias, também se distribuíram em dois grupos, porém com uma mudança sutil: superfosfato triplo = diamônio fosfato = fosfato natural = fertilizante organomineral > testemunha (Figura 6).



Fonte: produção do próprio autor

Figura 5 - P contido na biomassa microbiana do solo, na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$); NS = A interação entre "fontes" e "épocas" não foi significativa.



Fonte: produção do próprio autor

Figura 6 - C contido na biomassa microbiana do solo, na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Sugere-se que a dinâmica da biomassa microbiana do solo foi determinada pela disponibilidade de P (GATIBONI et al., 2008) e de C lábil (KUZYAKOV, 2002). Como pode ser observado na Figura 6, o Cmic na testemunha aumentou temporariamente, atingindo pico aos 19 dias, mostrando que o acréscimo da biomassa microbiana ocorreu pelo desenvolvimento resultante da incubação do solo em condições favoráveis de umidade e de temperatura, além da aplicação de N e de K. Porém, nas parcelas que receberam P, o Cmic foi

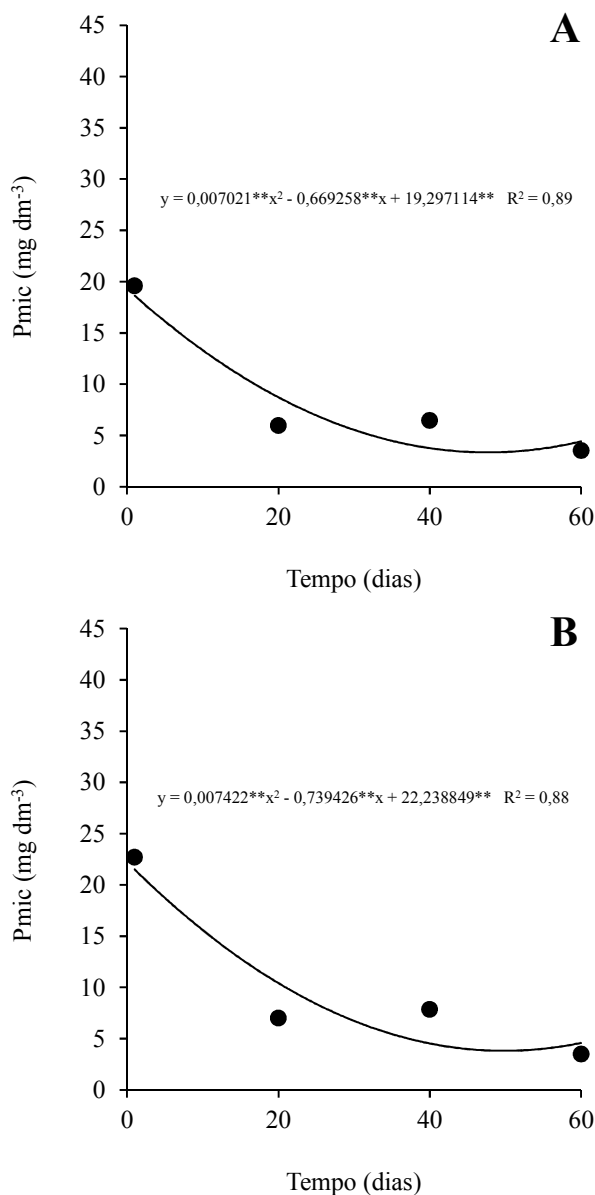
superior, evidenciando que a adição estimulou a biomassa microbiana. Para todas as fontes, os microrganismos tiveram que recorrer ao C lábil do solo, o qual é um fator limitante em ambiente não rizosférico (KUZYAKOV, 2002). Conforme já foi comentado, o fertilizante organomineral não é uma fonte diferenciada de P disponível, tampouco de C lábil. Por isso, a presença de matéria orgânica foi insuficiente para diferenciá-lo das fontes minerais solúveis (superfosfato triplo e diamônio fosfato) quanto à imobilização de P (na média de todas as épocas de coleta das amostras). Salienta-se que o C_{mic} foi limitado pela diminuição do pH do solo logo após aplicação de superfosfato triplo, o que acabou refletindo em um menor valor médio aos 20 dias em relação aos demais fertilizantes fosfatados (apesar de não ter influenciado o P_{mic}).

Os valores médios do P_{mic} foram similares aos 20 dias para os fertilizantes minerais e o organomineral, apesar da menor disponibilidade do P na mesma época para o fosfato natural. Provavelmente, isso ocorreu em razão da quantidade de P solubilizada do fosfato natural ter sido suficiente para o montante de P_{mic} imobilizado ou, ainda, da solubilização microbiana de fosfatos inorgânicos no solo. Corroborando esta última possibilidade, Chen et al. (2006) encontraram várias espécies de microrganismos com grande capacidade de solubilizar formas insolúveis de P, contribuindo efetivamente para o crescimento das plantas. Cinco tipos de ácidos orgânicos foram identificados: cítrico, glucônico, lático, succínico e propiônico.

Os valores do fluxo anual de P, em $kg\ ha^{-1}\ ano^{-1}$, calculados a partir dos picos de imobilização microbiana na camada de 0-2,5 cm, foram de: 12 para superfosfato triplo; 10 para diamônio fosfato; 10 para fosfato natural; e de 10 para fertilizante organomineral. Admitindo-se que uma lavoura de milho exporta $20\ kg\ ha^{-1}$ de P para produzir $6.000\ kg\ ha^{-1}$ de grãos (COELHO; FRANÇA, 1995), fica evidenciado o potencial da biomassa microbiana em imobilizar o P adicionado, retardando a adsorção. Para superfosfato triplo, diamônio fosfato e fertilizante organomineral, os picos do P_{mic} ocorreram pouco antes dos picos do P disponível (aproximadamente 1 dia de diferença). Na prática, a mineralização do P_{mic} representa uma fonte do nutriente exatamente quando começa o declínio da disponibilidade do P adicionado via fertilizantes, graças aos processos de adsorção. Supõe-se que a liberação de P é gradativa, sendo difícil detectá-lo em análise de laboratório. Assim, é importante que exista sincronismo entre a mineralização do P_{mic} e a absorção das plantas.

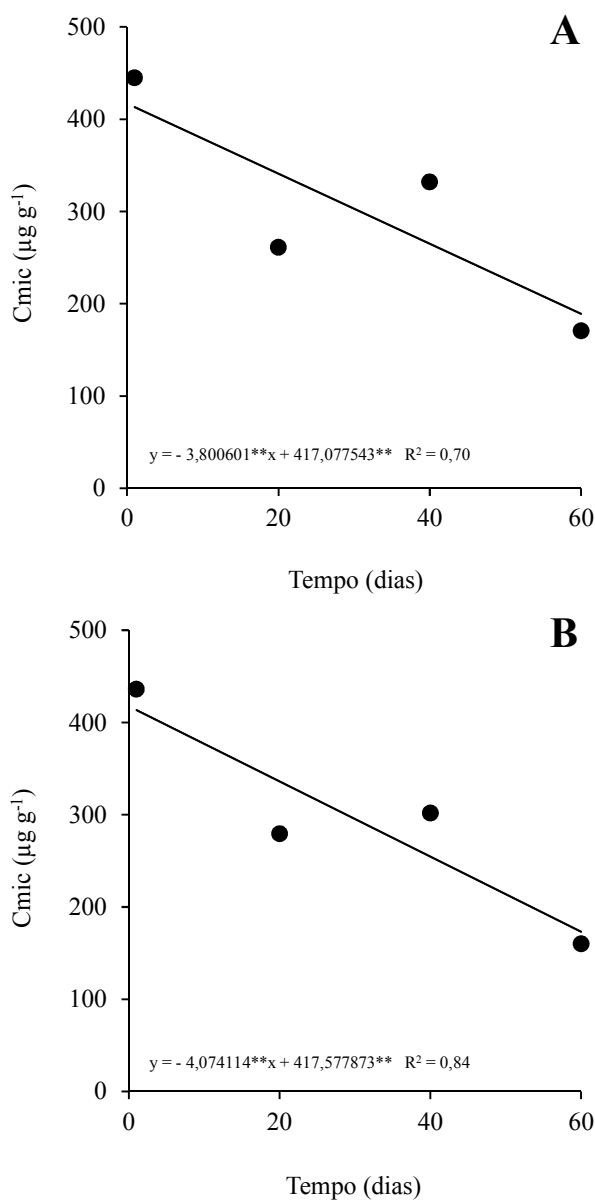
Nas camadas de 2,5-5,0 e 5,0-15,0 cm, o P_{mic} e o C_{mic} foram afetados somente pelas épocas de coleta das amostras (Apêndice C), decrescendo ao longo do tempo (Figuras 7 e 8). O P_{mic} apresentou variação temporal quadrática (concavidade da parábola voltada para

cima), atingindo os valores mínimos estimados de 3 mg dm^{-3} aos 48 dias e de 4 mg dm^{-3} aos 50 dias, nas camadas de 2,5-5,0 e 5,0-15,0 cm, respectivamente (Figura 7). O C_{mic} variou de 413 até $189 \mu\text{g g}^{-1}$ na camada de 2,5-5,0 cm e de 414 até $173 \mu\text{g g}^{-1}$ na camada de 5,0-15,0 cm (Figura 8).



Fonte: produção do próprio autor

Figura 7 - P contido na biomassa microbiana do solo, nas camadas de 2,5-5,0 (A) e 5,0-15,0 (B) cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral).



Fonte: produção do próprio autor

Figura 8 - C contido na biomassa microbiana do solo, nas camadas de 2,5-5,0 (A) e 5,0-15,0 (B) cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral).

A dinâmica do Pmic e do Cmic nessas camadas pode estar relacionada com a ausência de efeito das fontes sobre a disponibilidade de P, associada com a redução na aeração do solo pela maior distância em relação à superfície e pela existência de camadas sobrejacentes, que diminuem a macroporosidade em profundidade em virtude da pressão exercida sobre as camadas inferiores (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). No solo, o principal gás consumido é o

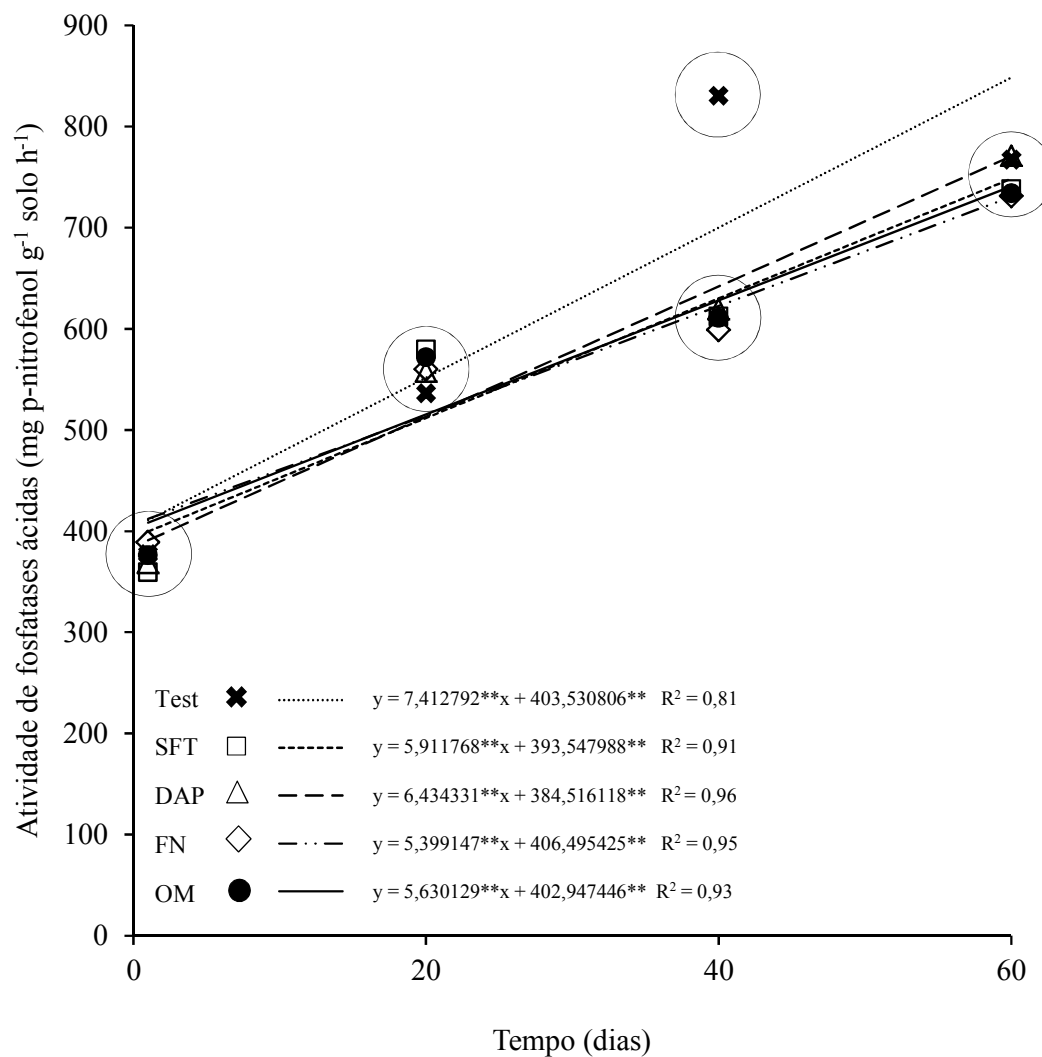
oxigênio, enquanto o principal gás produzido é o dióxido de carbono. A difusão é o mecanismo mais importante no fluxo de gases entre o solo e a atmosfera. Para o oxigênio, o consumo dos microrganismos diminui a pressão parcial desse gás, resultando em um gradiente de pressão entre o ar atmosférico e o ar do solo. Através da difusão, se estabelece um equilíbrio dinâmico. No entanto, quanto maior a presença de água ocupando os poros do solo (destaca-se que a umidade do solo foi mantida próxima a 90% da capacidade de campo), menor a sua condutividade gasosa e maiores gradientes de pressão são requeridos para manter o fluxo necessário. Maiores gradientes resultam em decréscimo mais acentuado da pressão de oxigênio com a profundidade (JONG VAN LIER, 2001). O raciocínio é semelhante para o dióxido de carbono, com tendência de acúmulo em profundidade, se tornando tóxico.

Assim, é provável que o decréscimo para o P_{mic} e o C_{mic} nas camadas mais distantes da zona de aplicação dos fertilizantes (2,5-5,0 e 5,0-15,0 cm) tenha ocorrido em razão da combinação de falta de P disponível para a biomassa microbiana e aeração inadequada. Acredita-se que na inexistência de restrições de aeração do solo nas camadas mais profundas, o comportamento nestas seria semelhante ao observado para a testemunha, na camada 0-2,5 cm.

A atividade de fosfatases ácidas e de β -glucosidases foi influenciada pelas fontes de P, pelas épocas de coleta das amostras e pela interação entre “fontes” e “épocas” (Apêndice D). A atividade enzimática apresentou variação temporal linear crescente para todas as fontes de P (Figuras 9 e 10).

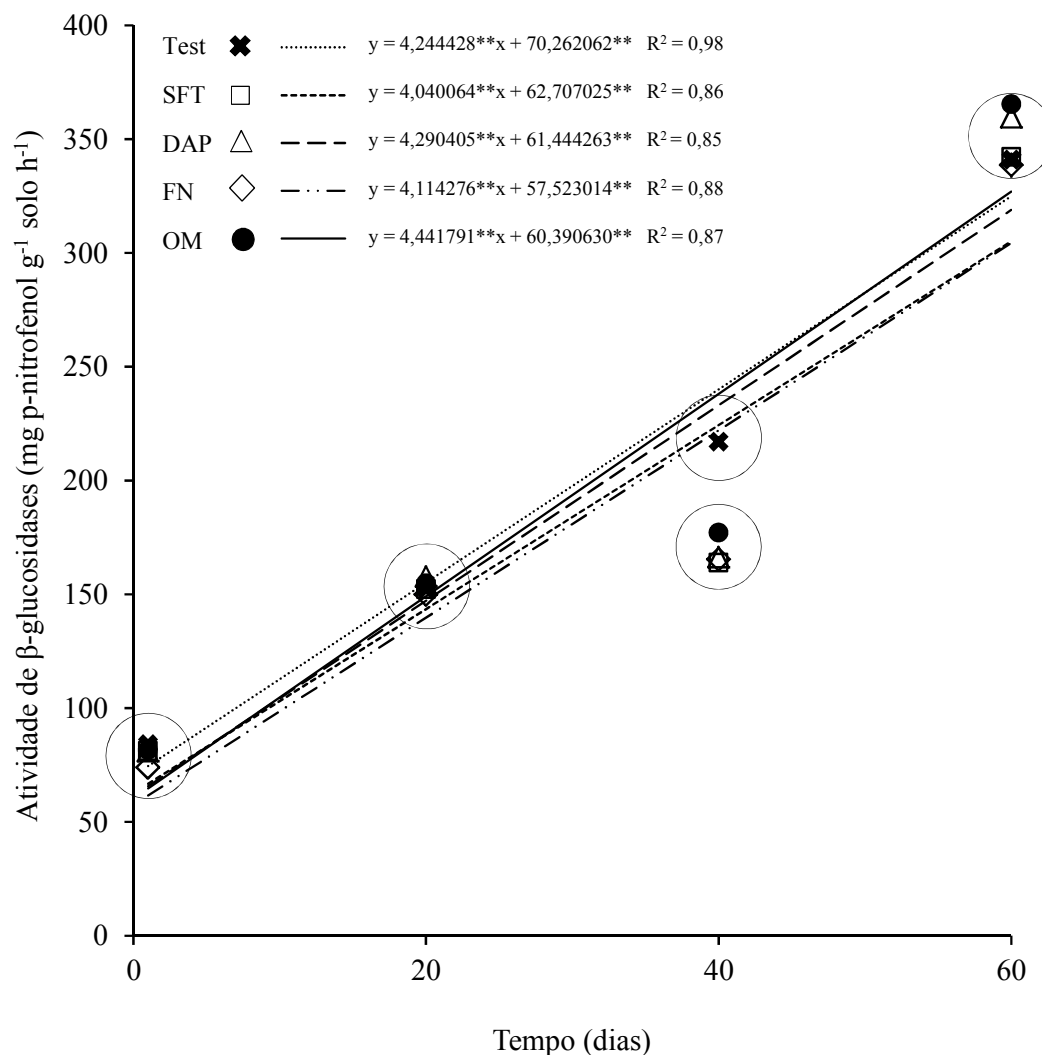
A atividade de fosfatases ácidas, em $\text{mg p-nitrofenol kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$, variou de: 411 até 848 para a testemunha; 399 até 748 para o superfosfato triplo; 391 até 771 para o diamônio fosfato; 412 até 730 para o fosfato natural; e de 409 até 741 para o fertilizante organomineral (Figura 9). A única diferença para a atividade de fosfatases ácidas dentro das épocas de coleta das amostras ocorreu aos 40 dias, sendo que na testemunha foi superior comparada com as outras fontes de P (Figura 9).

A atividade de β -glucosidases, em $\text{mg p-nitrofenol kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$, variou de: 75 até 325 para a testemunha; 67 até 305 para o superfosfato triplo; 66 até 319 para o diamônio fosfato; 62 até 304 para o fosfato natural; e de 65 até 327 para o fertilizante organomineral (Figura 10). A atividade de β -glucosidases para as fontes de P dentro de cada época de coleta das amostras foi similar em relação às fosfatases ácidas (Figura 10).



Fonte: produção do próprio autor

Figura 9 - Atividade de fosfatases ácidas no solo, na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).



Fonte: produção do próprio autor

Figura 10 - Atividade de β -glucosidasas no solo, na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral); Os círculos indicam os grupos formados a partir do desdobramento das fontes de P em cada época de coleta das amostras, conforme o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Provavelmente, a liberação das enzimas no solo aumentou no início em decorrência do crescimento da biomassa e da atividade microbiana. Levando-se em consideração o incremento inicial do P disponível na camada de 0-2,5 cm, pode parecer contraditório o comportamento das fosfatases ácidas, embora seja explicado pela alta afinidade do P com os colóides inorgânicos do solo, principalmente os óxidos de ferro e de alumínio, que exercem efeito estimulante sobre a liberação de fosfatases ácidas mesmo após aplicação de fertilizantes

fosfatados (CONTE et al., 2002). Depois dos picos do P_{mic} e do C_{mic} , ocorreu rápido decréscimo da biomassa microbiana e acréscimo gradativo da atividade enzimática. Isso pode ser um indicio de elevação do quociente metabólico em virtude da redução da disponibilidade de P e de C lábil. Em casos de estresse como esse, a energia obtida pelos microrganismos é direcionada para a manutenção celular, em detrimento do crescimento, sendo que uma parte do C da biomassa é perdida na forma de CO_2 (SAVIOZZI et al., 2002).

Complementando, no estudo de Conte et al. (2002), não foi verificada diferença entre a atividade de fosfatases ácidas mesmo entre doses bastante discrepantes de P, variando de 0 a 1.240 kg ha^{-1} de P_2O_5 , na soma das aplicações de verão e de inverno, durante cinco anos de cultivo.

Sugere-se que as duas enzimas atuaram conjuntamente em razão da necessidade de energia (glucose) dos microrganismos para liberar fosfatases ácidas no solo, embora não seja garantida a disponibilização de P e de glucose por causa da baixa eficiência catalítica das enzimas extracelulares. Estas podem sofrer forte influência do ambiente microbiano antes de atingir o substrato, sem contar que os próprios produtos da reação também estão sujeitos as mesmas interferências, o que dificulta a obtenção pela célula microbiana que produz e libera a enzima (BÜNEMANN et al., 2012; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). É possível que as fosfatases ácidas e as β -glucosidases tenham sido complexadas e estabilizadas pela matéria orgânica e pela argila do solo, mantendo a atividade durante o período de avaliação (BURNS, 1982; KNIGHT; DICK, 2004; RAO et al., 2000). Assim, o solo pode ter apresentado uma atividade enzimática que não estava completamente relacionada com as flutuações microbianas (BADALUCCO et al., 1992; NANNIPIERI et al, 1990).

Supõe-se que a atividade de β -glucosidases é um indicador mais sensível do que a análise do C lábil para detectar a diminuição das frações de C com maior labilidade no solo.

Em resumo, a aplicação de fertilizantes fosfatados minerais e organomineral altera diferentemente os atributos químicos do solo nas proximidades dos grânulos (P disponível, pH), estimulando a ocorrência de picos populacionais (distintos conforme o tipo de fertilizante) de microrganismos que utilizam substratos simples e prontamente disponíveis. O aumento do carbono da biomassa microbiana é acompanhado pelo acréscimo na imobilização microbiana de P, cuja magnitude é dependente da fertilização fosfatada. Esse comportamento é temporário, pois ocorre declínio da população microbiana na medida em que os substratos e os nutrientes são consumidos. Assim, a adsorção de P é retardada, aumentando a probabilidade de uso do nutriente pelas plantas, desde que exista sincronismo entre a absorção e a mineralização do P microbiano.

5 CONCLUSÕES

Na camada de 0-2,5 cm, a aplicação dos fertilizantes fosfatados solúveis aumentou temporariamente a disponibilidade de P, resultando em uma variação temporal quadrática. Os picos do P disponível ocorreram aproximadamente aos 32 dias. Quanto à magnitude, as fontes de P se distribuíram nestes grupos: superfosfato triplo = diamônio fosfato = fertilizante organomineral > fosfato natural > testemunha. A imobilização microbiana de P apresentou variação temporal e magnitude similares ao P disponível, exceto para fosfato natural, que se destacou apenas quanto ao P microbiano. Os picos do P microbiano ocorreram aproximadamente aos 30 dias.

Esses resultados foram corroborados pela dinâmica do carbono microbiano, da atividade enzimática, do carbono lábil e do pH do solo.

Na camada de 2,5-5,0 cm, a disponibilidade de P aumentou sutil e temporariamente ao longo do tempo, enquanto o P microbiano decresceu (ambos sem distinção entre as fontes). Na camada de 5,0-15,0 cm, o P disponível não foi alterado e o P microbiano também decresceu (ambos sem distinção entre as fontes).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. A.; TORRENT, J.; BARRÓN, V. Cor do solo, formas de fósforo e adsorção de fosfatos em latossolos desenvolvidos de basalto do extremo-sul do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 985-1002, 2003.
- ANDRADE, F. V.; MENDONÇA, E. S.; ALVAREZ V, V. H.; NOVAIS, R. F. Adição de ácidos orgânicos e húmicos em latossolos e adsorção de fosfato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 1003-1011, 2003.
- BADALUCCO, L.; GREGO, S.; DELL'ORCO, S.; NANNIPIERI, P. Effect of liming on some chemical, biochemical, and microbiological properties of acid soils under spruce (*Picea abies* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v. 14, p. 76-83, 1992.
- BARROW, N. J. The four laws of soil chemistry: the Leeper lecture 1998. **Australian Journal of Soil Research**, v. 37, p. 787-829, 1999.
- BIRKHOFER, K. et al. Long-term organic farming fosters below and aboveground biota: implications for soil quality, biological control and productivity. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, p. 2297-2308, 2008.
- BÖHME, L.; LANGER, U.; BÖHME, F. Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiments. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 109, p. 141-152, 2005.
- 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.
- BÜNEMANN, E. K.; STEINEBRUNNER, F.; SMITHSON, P. C.; FROSSARD, E.; OBERSON, A. Phosphorus dynamics in a highly weathered soil as revealed by isotopic labeling techniques. **Soil Science Society of American Journal**, v. 68, p. 1645-1655, 2004.
- BÜNEMANN, E. K. et al. Rapid microbial phosphorus immobilization dominates gross phosphorus fluxes in a grassland soil with low inorganic phosphorus availability. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 51, p. 84-95, 2012.
- BURNS, R. G. Enzyme activity in soils: location and a possible role in microbial ecology. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 14, p. 423-427, 1982.

CHAN, K. Y.; BOWMAN, A.; OATES, A. Oxidizable organic carbon fractions and soil quality changes in an oxic paleustalf under different pasture leys. **Soil Science**, v. 166, p. 61-67, 2001.

CHAUHAN, B. S.; STEWART, J. W. B.; PAUL, E. A. Effect of carbon additions on soil labile inorganic, organic and microbially held phosphate. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 59, p. 387-396, 1979.

CHEN, Y. P. et al. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. **Applied Soil Ecology**, v. 34, p. 33-41, 2006.

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. **Seja o doutor do seu milho: nutrição e adubação**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1995. 25 p.

CONTE, E.; ANGHINONI, I.; RHEINHEIMER, D. S. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatase ácida após aplicação de fosfato em solo no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, p. 925-930, 2002.

CORRÊA, R. M.; NASCIMENTO, C. W. A.; ROCHA, A. T. Adsorção de fósforo em dez solos do Estado de Pernambuco e suas relações com parâmetros físicos e químicos. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, p. 153-159, 2011.

CQFS-RS/SC (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - NÚCLEO REGIONAL SUL). **Manual de recomendação de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: SBCS, 2004. 400 p.

DICK, W. A.; TABATABAI, M. A. Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds. **Journal of Environmental Quality**, v. 6, p. 82-85, 1977.

ERNANI, P. R. **Química do solo e disponibilidade de nutrientes**. Lages: UDESC, 2008. 229 p.

ERNANI, P. R.; STECKLING, C.; BAYER, C. Características químicas de solo e rendimento de massa seca de milho em função do método de aplicação de fosfatos, em dois níveis de acidez. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 939-946, 2001.

FALCÃO, N. P. S.; SILVA, J. R. A. Características de adsorção de fósforo em alguns solos da Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 34, p. 337-342, 2004.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). **World reference base for soil resources**. Rome: FAO, ISRIC, IUSS, 2006. 132 p. (World Soil Resources Report, 103)

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; OLIVEIRA, J. P.; SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P. (Eds) **Biotechnologia aplicada à agricultura: textos de apoio e protocolos experimentais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Recife: Instituto Agronômico de Pernambuco, 2010. 761 p.

FIXEN, P. E.; GROVE, J. H. Testing soils for phosphorus. In: WESTERMAN, R. L. (Ed) **Soil testing and plant analysis**. 3. ed. Madison: SSSA, 1990. p. 141-180.

FLIEßBACH, A.; OBERHOLZE, H. R.; GUNST, L.; MÄDER, P. Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 18, p. 273-284, 2007.

GATIBONI, L. C. **Disponibilidade de formas de fósforo do solo às plantas**. 2003. 231 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria. Programa de Pós-graduação em Agronomia, Santa Maria, 2003.

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

GIL-SOTRES, F.; TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M. C.; SEOANE, S. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, p. 877-87, 2005.

GOLDBERG, S.; SPOSITO, G. On the mechanism of phosphate adsorption by hydroxylated mineral surfaces: a review. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 16, p. 801-821, 1985.

HAYNES, R. J. Lime and phosphate in the soil plant system. **Advances in Agronomy**, v. 37, p. 249-315, 1984.

HERNÁNDEZ, J.; MEURER, E. J. Adsorção de fósforo e sua relação com formas de ferro em dez solos do Uruguai. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 223-230, 1998.

JONG VAN LIER, Q. Oxigenação do sistema radicular: uma abordagem física. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 233-238, 2001.

KNIGHT, T. R.; DICK, R. P. Differentiating microbial and stabilized β -glucosidase activity relative to soil quality. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, p. 2089-2096, 2004.

KONG, W. D. et al. Effect of long-term application of chemical fertilizers on microbial biomass and functional diversity of a black soil. **Pedosphere**, v. 18, p. 801-808, 2008.

KUZYAKOV, Y. Review: factors affecting rhizosphere priming effects. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 165, p. 382-396, 2002.

LIN, X. G. et al. Changes of soil microbiological properties caused by land use changing from rice-wheat rotation to vegetable cultivation. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 26, p. 119-128, 2004.

MARTINAZZO, R.; RHEINHEIMER, D. S.; GATIBONI, L. C.; BRUNETTO, G.; KAMINSKI, J. Fósforo microbiano do solo sob sistema plantio direto em resposta à adição de fosfato solúvel. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 563-570, 2007.

MEHLICH, A. **Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH_4 by North Carolina soil testing laboratories**. Raleigh: University of North Carolina, 1953. (Não publicado)

MONTALVO GRIJALVA, D. F.; CROZIER, C. R.; SMYTH, T. J.; HARDY, D. H. Nitrogen, phosphorus, and liming effects of poultry layer manures in coastal plain and piedmont soils. **Agronomy Journal**, v. 102, p. 1329-1339, 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 27, p. 31-36, 1962.

NANNIPIERI, P.; GREGO, S.; CECCANTI, B. Ecological significance of the biological activity in soil. In: BOLLAG, J. M.; STOTZKY, G. (Eds) **Soil biochemistry**. Volume 6. New York: Marcel Dekker, 1990. p. 293-355.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa-MG: UFV, 1999. 399 p.

NOVAIS, R. F. et al. **Fertilidade do solo**. Viçosa-MG: SBCS, 2007. 1017 p.

OLIVEIRA, C. M. B. **Comportamento dos métodos mehlich 1, mehlich 3 e resina trocadora de ânions frente ao poder tampão do solo e à utilização de fosfatos naturais**. 2010. 70 p. Dissertação (Manejo do Solo) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2010.

PARFITT, R. L. Anion adsorption by soils and soil materials. **Advances in Agronomy**, v. 30, p. 1-46, 1978.

PARFITT, R. L. Phosphate reactions with natural allophane, ferrihydrite and goethite. **Journal of Soil Science**, v. 40, p. 359-369, 1989.

RAO, M. A.; VIOLANTE, A.; GIANFREDI, L. Interaction of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, 1007-1014, 2000.

RHEINHEIMER, D. S.; ANGHINONI, I.; CONTE, E. Fósforo da biomassa microbiana em solos sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 589-597, 2000.

RHEINHEIMER, D. S.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 38, p. 576-586, 2008a.

RHEINHEIMER, D. S.; MARTINAZZO, R.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J.; SILVA, L. S. Amplitude no fósforo microbiano em um argissolo em pastagem nativa submetida à roçada e à introdução de espécies forrageiras com fertilização fosfatada em diferentes épocas. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, p. 561-567, 2008b.

SAVIOZZI, A.; BUFALINO, P.; LEVI-MINZI, R.; RIFFALD, R. Biochemical activities in a degraded soil restored by two amendments: a laboratory study. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, p. 96-101, 2002.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, p. 507-512, 1974.

SILVA, F. C. (Ed) **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 627 p.

SOUZA, J. S. I.; PEIXOTO, A. M.; TOLEDO, F. F. **Enciclopédia agrícola brasileira, vol. 1 - A-B**. São Paulo: EDUSP, 1995. 508 p.

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 Biochemistry**, v, 23, p. 117-124, 1991.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, J. R.; BOTTOMLEY, P. S. (Eds) **Methods of soil analysis**. Part 2: microbiological and biochemical properties. Madison: SSSA, 1994. p. 775-833.

VALLADARES, G. S.; PEREIRA, M. G.; ANJOS, L. H. C. Adsorção de fósforo em solos de argila de atividade baixa. **Bragantia**, v. 62, p. 111-118, 2003.

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

WALKLEY, A.; BLACK, I. A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, v. 37, p. 29-38, 1934.

ZHONG, W. H.; CAI, Z. C. Long-term effects of inorganic fertilizers on microbial biomass and community functional diversity in a paddy soil derived from quaternary red clay. **Applied Soil Ecology**, v. 36, p. 84-91, 2007.

APÊNDICES

Apêndice A - Sala onde foi conduzido o experimento



Fonte: produção do próprio autor

Apêndice B - Disposição das colunas de solo após instalação do experimento





Fonte: produção do próprio autor

Apêndice C - Resumo da ANOVA para P disponível extraído por resina trocadora de ânions (P_{RTA}), fósforo (P_{mic}) e carbono (C_{mic}) da biomassa microbiana do solo, nas camadas de 0-2,5, 2,5-5,0 e 5,0-15,0 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral)

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		
		Camada de 0-2,5 cm		
		P_{RTA}	P_{mic}	C_{mic}
Fontes de P	5	744,12**	1.333,24**	26.382,02**
Épocas de coleta das amostras	3	938,29**	5.423,39**	882.027,83**
Interação “fontes” x “épocas”	15	82,01*	253,53*	9.630,07*
Repetições	3	13,37	2,80	2.374,51
Resíduo	69	40,90	118,21	4.170,10
CV (%)	- x -	16,73	35,04	13,27
Fontes de variação	GL	Camada de 2,5-5,0 cm		
		P_{RTA}	P_{mic}	C_{mic}
		P_{RTA}	P_{mic}	C_{mic}
Fontes de P	5	17,30 ^{NS}	5,05 ^{NS}	4.412,66 ^{NS}
Épocas de coleta das amostras	3	745,04**	1.052,87**	268.196,78**
Interação “fontes” x “épocas”	15	59,54 ^{NS}	4,85 ^{NS}	9.211,49 ^{NS}
Repetições	3	70,22	7,94	22.155,76
Resíduo	69	102,71	14,40	8.299,88
CV (%)	- x -	29,86	42,72	30,16
Fontes de variação	GL	Camada de 5,0-15,0 cm		
		P_{RTA}	P_{mic}	C_{mic}
		P_{RTA}	P_{mic}	C_{mic}
Fontes de P	5	21,41 ^{NS}	8,16 ^{NS}	12.953,19 ^{NS}
Épocas de coleta das amostras	3	18,89 ^{NS}	1.444,93**	255.572,39**
Interação “fontes” x “épocas”	15	11,30 ^{NS}	14,23 ^{NS}	7.608,22 ^{NS}
Repetições	3	6,82	13,95	1.216,92
Resíduo	69	14,14	9,92	5.953,25
CV (%)	-- x -	10,22	30,68	26,21

Fonte: produção do próprio autor

** = Significativo pelo teste F ($p < 0,01$); * = Significativo pelo teste F ($p < 0,05$); NS = Não significativo

Apêndice D - Resumo da ANOVA para atividade de fosfatases ácidas e de β -glucosidases, C lábil e pH do solo, na camada de 0-2,5 cm abaixo da zona dos fertilizantes, nas épocas de 1, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (Test: testemunha, sem aplicação de P; SFT: superfosfato triplo; DAP: diamônio fosfato; FN: fosfato natural reativo de Arad; OM: fertilizante organomineral)

Fontes de variação	GL	Quadrado médio			
		Fosfatases ácidas	β -glucosidases	C lábil	pH
Fontes de P	5	9.557,86**	754,84*	3,45 ^{NS}	0,251688**
“Épocas”	3	510.369,03**	259.100,15**	1,12 ^{NS}	0,168333**
Interação F x E	15	10.805,00**	654,45*	3,18 ^{NS}	0,026771**
Repetições	3	504,83	74,46	1,06	0,007000
Resíduo	69	1.635,13	269,24	2,16	0,007789
CV (%)	- x -	6,92	8,62	20,16	1,70

Fonte: produção do próprio autor

** = Significativo pelo teste F ($p < 0,01$); * = Significativo pelo teste F ($p < 0,05$); NS = Não significativo

ANEXOS

Anexo A - Metodologia para determinar a atividade de fosfatases ácidas no solo (Figueiredo et al. 2010; Tabatabai, 1994)

Reagentes

- Solução padrão de p-nitrofenol 1 g L^{-1} : pesar 1 g de p-nitrofenol e colocar em becker de 250 mL. Adicionar cerca de 70 mL de água destilada e dissolver. Transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume com água destilada.
- Solução padrão de p-nitrofenol 10 mg L^{-1} : pipetar 1 mL da solução padrão de p-nitrofenol 1 g L^{-1} para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada.
- Solução estoque do tampão universal modificado (MUB), pH 11: pesar 12,1 g de Tris; 11,6 g de ácido maleico; 14,0 g de ácido cítrico; e 6,3 g de ácido bórico e colocar em becker de 1.000 mL. Adicionar cerca de 500 mL de solução de NaOH 1 mol L^{-1} e dissolver. Transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume com água destilada. Armazenar a 4°C .
- Solução do tampão universal modificado (MUB), com pH 6,5: pipetar 200 mL da solução estoque do MUB para becker de 500 mL e adicionar solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ até atingir pH 6,5, sob agitação contínua. Transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume com água destilada. É recomendável a preparação no momento do uso.
- Solução padrão de p-nitrofenilfosfato de sódio ($\text{C}_6\text{H}_4\text{NNa}_2\text{O}_6\text{P} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) $0,5 \text{ mol L}^{-1}$: pesar 0,84 g de p-nitrofenilfosfato de sódio tetrahidratado e colocar em becker de 250 mL. Adicionar cerca de 40 mL do tampão MUB pH 6,5 e dissolver. Transferir para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com MUB pH 6,5. É recomendável a preparação no momento do uso.
- Solução de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.
- Solução de NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

Marcha analítica

Pesar 1 g da amostra de solo recém-obtida, passada em peneira de 2 mm, e colocar em erlenmeyer de 50 mL. Adicionar 0,2 mL de tolueno, 4 mL do tampão MUB pH 6,5 e 1 mL de p-nitrofenilfosfato de sódio. Homogeneizar, agitando manualmente por poucos segundos, vedar o erlenmeyer com papel laminado e incubar a 37 °C por 1 hora. Após a incubação, adicionar 1 mL da solução de CaCl_2 e 4 mL da solução de NaOH. Homogeneizar, agitando manualmente por poucos segundos, e filtrar em papel de filtro Whatman nº 1 ou equivalente. Ler a absorbância do filtrado em comprimento de onda de 400 nm. Realizar replicatas de laboratório. Para cada amostra, desenvolver uma prova em branco, adicionando o p-nitrofenilfosfato de sódio após adição da solução de NaOH (imediatamente antes da filtração da suspensão resultante).

Curva de calibração

Em seis erlenmeyers de 50 mL, adicionar respectivamente: 0; 2; 3; 4; e 5 mL da solução de p-nitrofenol 10 mg L⁻¹ e completar o volume para 5 mL com água destilada. Repetir o mesmo procedimento descrito para as amostras de solo (adicionar 1 mL da solução de CaCl_2 e 4 mL da solução de NaOH, misturar e filtrar a suspensão resultante). Ler a absorbância das soluções de p-nitrofenol em comprimento de onda de 400 nm. Aos resultados obtidos, aplicar regressão linear, de modo a obter a equação da curva de calibração, relacionando absorbância (eixo Y) com concentração de p-nitrofenol em mg L⁻¹ (eixo X).

Cálculos

O cálculo da atividade de fosfatases ácidas é feito pela equação a seguir:

$$\text{AFA} = \frac{(\text{Vt} + \text{Vs} + \text{Vc} + \text{Vh}) \times (\text{Aa} - \text{Ab} - b) \times \text{Fc}}{a \times m \times t}$$

Em que: AFA = atividade de fosfatases ácidas, em mg de p-nitrofenol por kg de solo por hora de incubação; Vt = volume, em mL, do tampão; Vs = volume, em mL, de p-nitrofenilfosfato de sódio; Vc = volume, em mL, de CaCl_2 ; Vh = volume, em mL, de NaOH; Aa = absorbância da amostra; Ab = absorbância do branco; b = constante da equação da curva de calibração; Fc

= fator de correção de umidade para “base seca”; a = coeficiente angular da equação da curva de calibração; m = massa, em gramas, da amostra de solo; t = tempo de incubação, em horas.

Anexo B - Metodologia para determinar a atividade de β -glucosidases no solo (Figueiredo et al. 2010; Tabatabai, 1994)

Reagentes

- Solução padrão de p-nitrofenol 1 g L^{-1} : pesar 1 g de p-nitrofenol e colocar em becker de 250 mL. Adicionar cerca de 70 mL de água destilada e dissolver. Transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume com água destilada.
- Solução padrão de p-nitrofenol 10 mg L^{-1} : pipetar 1 mL da solução padrão de p-nitrofenol 1 g L^{-1} para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada.
- Solução estoque do tampão universal modificado (MUB), pH 11: pesar 12,1 g de Tris; 11,6 g de ácido maleico; 14,0 g de ácido cítrico; e 6,3 g de ácido bórico e colocar em becker de 1.000 mL. Adicionar cerca de 500 mL de solução de NaOH 1 mol L^{-1} e dissolver. Transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume com água destilada. Armazenar a 4°C .
- Solução do tampão universal modificado (MUB), com pH 6,0: pipetar 200 mL da solução estoque do MUB para becker de 500 mL e adicionar solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ até atingir pH 6,0, sob agitação contínua. Transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume com água destilada. É recomendável a preparação no momento do uso.
- Solução padrão de p-nitrofenil- β -D-glucopiranosídeo ($\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_8$) $0,05 \text{ mol L}^{-1}$: pesar 0,654 g de p-nitrofenil- β -D-glucopiranosídeo e colocar em becker de 250 mL. Adicionar cerca de 40 mL do tampão MUB pH 6,0 e dissolver. Transferir para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com MUB pH 6,0. É recomendável a preparação no momento do uso.
- Solução de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.
- Solução de Tris $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 12.

Marcha analítica

Pesar 1 g da amostra de solo recém-obtida, passada em peneira de 2 mm, e colocar em erlenmeyer de 50 mL. Adicionar 0,25 mL de tolueno, 4 mL do tampão MUB pH 6,0 e 1 mL

de p-nitrofenil- β -D-glucopiranosídeo. Homogeneizar, agitando manualmente por poucos segundos, vedar o erlenmeyer com papel laminado e incubar a 37 °C por 1 hora. Após a incubação, adicionar 1 mL da solução de CaCl_2 e 4 mL da solução de Tris pH 12. Homogeneizar, agitando manualmente por poucos segundos, e filtrar em papel de filtro Whatman nº 1 ou equivalente. Ler a absorbância do filtrado em comprimento de onda de 400 nm. Realizar replicatas de laboratório. Para cada amostra, desenvolver uma prova em branco, adicionando o p-nitrofenil- β -D-glucopiranosídeo após adição da solução de Tris pH 12 (imediatamente antes da filtração da suspensão resultante).

Curva de calibração

Em seis erlenmeyers de 50 mL, adicionar respectivamente: 0; 2; 3; 4; e 5 mL da solução de p-nitrofenol 10 mg L⁻¹ e completar o volume para 5 mL com água destilada. Repetir o mesmo procedimento descrito para as amostras de solo (adicionar 1 mL da solução de CaCl_2 e 4 mL da solução de Tris pH 12, misturar e filtrar a suspensão resultante). Ler a absorbância das soluções de p-nitrofenol em comprimento de onda de 400 nm. Aos resultados obtidos, aplicar regressão linear, de modo a obter a equação da curva de calibração, relacionando absorbância (eixo Y) com concentração de p-nitrofenol em mg L⁻¹ (eixo X).

Cálculos

O cálculo da atividade de β -glucosidases é feito pela equação a seguir:

$$ABG = \frac{(V_t + V_s + V_c + V_{tr}) \times (A_a - A_b - b) \times F_c}{a \times m \times t}$$

Em que: ABG = atividade de β -glucosidases, em mg de p-nitrofenol por kg de solo por hora de incubação; V_t = volume, em mL, do tampão; V_s = volume, em mL, de p-nitrofenil- β -D-glucopiranosídeo; V_c = volume, em mL, de CaCl_2 ; V_{tr} = volume, em mL, de Tris pH 12; A_a = absorbância da amostra; A_b = absorbância do branco; b = constante da equação da curva de calibração; F_c = fator de correção de umidade para “base seca”; a = coeficiente angular da equação da curva de calibração; m = massa, em gramas, da amostra de solo; t = tempo de incubação, em horas.