

## **ATIVIDADE ENZIMÁTICA E ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO COM QUANTIDADES VARIADAS DE PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Vieira, R.F.<sup>1</sup>; Ramos, N.P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Meio Ambiente, CP 69, CEP 13620-000, Jaguariúna, SP  
Email: rosana.vieira@embrapa.br

**Resumo** - Por razões ambientais, agronômicas e econômicas a colheita manual da cana tem sido substituída por operação mecânica que mantém toda a palhada sobre o solo. Apesar dos vários benefícios que esta prática proporciona existe um crescente interesse em remover parte daquele resíduo como matéria prima para utilização na produção de energia e de etanol de segunda geração. Entretanto, poucas informações são disponíveis sobre a quantidade de palha que deve ser mantida no campo de modo a não afetar a produtividade da cana além de ser sustentável em termos ambientais. Outro fator que vem sendo estudado é a utilização de inoculantes bacterianos em substituição ao adubo nitrogenado. Entretanto, para determinar a adequabilidade de se utilizar diferentes tipos de manejos é necessário que o solo seja monitorado utilizando-se indicadores de qualidade de solo. Os indicadores microbiológicos têm sido amplamente utilizados uma vez que são atributos sensíveis ao manejo de solo. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade enzimática e microbiológica em áreas cultivadas com cana onde quantidades variadas de palha foram mantidas sobre o solo. A cana não recebeu adubação nitrogenada e foi inoculada com bactérias promotoras de crescimento de plantas. O experimento foi conduzido em Guaiúra, SP, em blocos ao acaso, com 4 repetições e os tratamentos: áreas com 0%, 36%, 64% e 100% de palha mantida sobre o solo, em duas socas. As avaliações das atividades enzimáticas foram feitas em abril de 2015 e janeiro de 2016. As atividades da  $\beta$ -glucosidase não variaram entre os tratamentos nas duas épocas e foi maior no solo da segunda coleta. As atividades da urease variaram entre os tratamentos e foram maiores nos tratamentos I36 e I64, na coleta de 2015. Na segunda coleta os resultados foram maiores do que os obtidos em 2015, mas sem diferenças entre os tratamentos. As atividades da fosfatase ácida variaram entre os tratamentos mas não apresentaram diferenças consistentes que pudessem ser explicadas e, do mesmo modo, foram maiores na segunda avaliação. As atividades microbianas, medidas pela hidrólise do diacetato de fluoresceína, não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos e foram menores na segunda avaliação. Os resultados demonstraram que fatores ambientais podem ter sido os que mais influenciaram as atividades enzimáticas e microbianas do solo. O curto período de tempo em que o experimento foi conduzido pode não ter sido adequado para demonstrar diferenças entre os tratamentos. Sugere-se que mais amostragens sejam feitas ao longo do ciclo da cana e por um período maior de tempo no sentido de avaliar o melhor indicador de qualidade de solo.

**Palavras Chave:** Cana de açúcar. Atividade microbiológica do solo. Atividade enzimática do solo

## 1. Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de cana, com um rendimento de 616 milhões de toneladas obtidos na colheita de 2017/2018, provenientes de uma área plantada de 8,6 milhões de hectares (CONAB, 2018), concentrados principalmente na região centro-sul. Por razões econômicas, agrônômicas e ambientais grande parte das áreas produtoras de cana adotam a colheita mecânica por ser mais sustentável, uma vez que evita a queima e ainda permite a manutenção anual de elevadas quantidades de palha sobre o solo (i.e., 10-20 Mg ha<sup>-1</sup> de massa seca) (LEAL et al., 2013). Apesar dos benefícios físicos e químicos que esta prática traz ao solo ao solo, existe um crescente interesse em retirar parte deste resíduo como matéria prima para ser utilizada na produção de bioenergia e de etanol de segunda geração (KHATIWADA et al., 2016; LISBOA et al., 2018). Entretanto, ainda não existe uma recomendação efetiva sobre a quantidade de palha que poderia ser retirada do campo sem provocar alterações na produtividade da cana e na qualidade do solo. Segundo Aquino et al. (2018) é possível remover 50 % da palha do campo para processos industriais sem afetar de forma negativa a produtividade da cultura. Carvalho et al. (2016) sugeriu que pelo menos 7 Mg ha<sup>-1</sup> de palha deveriam permanecer no campo de modo a evitar reduções no rendimento da cana e aumento da degradação ambiental.

Além do encerramento da queima e do aproveitamento da palha para geração de maior quantidade de energia renovável por área, outra prática que pode ampliar a sustentabilidade na produção da cana-de-açúcar é a substituição parcial ou total de fertilizantes nitrogenados fósseis por inoculantes biológicos. Baldani et al. (1997) e Reis et al. (2009) verificaram efeitos positivos com uso de inoculantes em cana, que promovem a fixação biológica de nitrogênio e ampliam o crescimento de plantas, devido à ação de fitohormônios (SUMAN et al., 2005). Também foram relatados efeitos indiretos, pela melhoria na solubilização de fosfatos (SINGH et al., 2007), incremento no teor de C orgânico do solo e mineralização de nutrientes próximos à rizosfera (YADAV et al., 2009; TAULE et al., 2012; BENEDUZI et al., 2013). O efeito combinado da manutenção de diferentes quantidades de palha pós colheita com a aplicação de inoculantes biológicos substituindo a adubação nitrogenadas de cobertura é inédito e ainda precisa ser melhor esclarecido. Isto porque ainda não se sabe se a ação dos inoculantes pode ser potencializada ou reduzida na presença da palha.

A adoção de determinados tipos de manejo, entretanto, deve ser sempre monitorada por determinados indicadores de qualidade de solo, no sentido de averiguar a real sustentabilidade do sistema de cultivo a ser utilizado. As atividades enzimáticas e as atividades dos microrganismos têm sido sugeridas como indicadores potenciais de qualidade do solo, uma vez que elas respondem rapidamente a mudanças nas práticas de manejo (PANDEY et al., 2014; RASOOL et al., 2014), às condições ambientais e às estruturas das comunidades microbianas do solo (DICK et al. 1996). Dentre estas enzimas podem ser citadas a  $\beta$ -glucosidase, a urease e a fosfatase ácida envolvidas no ciclo do carbono (C), nitrogênio (N) e do fósforo (P), respectivamente. A  $\beta$ -glucosidase realiza o passo final da degradação da celulose liberando glicose, que é a maior fonte de C para as comunidades microbianas (WANG et al., 2010). A urease tem uma importante função no ciclo de nitrogênio porque ela hidrolisa compostos tipo ureia para CO<sub>2</sub> e nitrogênio amoniacal (DICK et al., 1996). A fosfatase ácida é fundamental na mineralização do fósforo uma vez que catalisa a hidrólise de fósforo orgânico a fósforo inorgânico (REJSEK et al., 2012). O método enzimático da atividade de hidrólise do diacetato de fluoresceína tem também sido amplamente utilizado como indicador de qualidade do solo e

mede a atividade potencial dos microrganismos heterotróficos envolvendo uma série de substratos (ADAM; DUNCAN, 2001; SCHUMACHER et al., 2015).

Diante do exposto este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade enzimática e a atividade microbiológica do solo em área cultivada com cana de açúcar com diferentes quantidades de palha mantidas sobre o solo e inoculadas com bactérias promotoras de crescimento de plantas.

## 2. Material e métodos

### 2.1. Descrição da área

O experimento foi conduzido em Guaíra, SP. O clima da região é especificado como Cwa de acordo com a classificação de Köppen, que se caracteriza por verões quentes e estações secas de maio a setembro. A temperatura média anual do ar varia de 15,2°C a 28°C, enquanto a precipitação média anual varia de 30 mm a 236,9 mm (Figura 1). O solo é classificado como Latossolo Vermelho Acriférico (EMBRAPA, 2013) de textura argilosa (64% de argila, 21% de areia e 15 % de silte) e vem sendo cultivado com cana nos últimos 65 anos. O método de colheita manual, com queima, foi utilizado até o ano de 2010, quando foi substituído pelo sistema de colheita mecanizada. As análises químicas do solo são apresentadas na Tabela 1 (Embrapa, 1997).

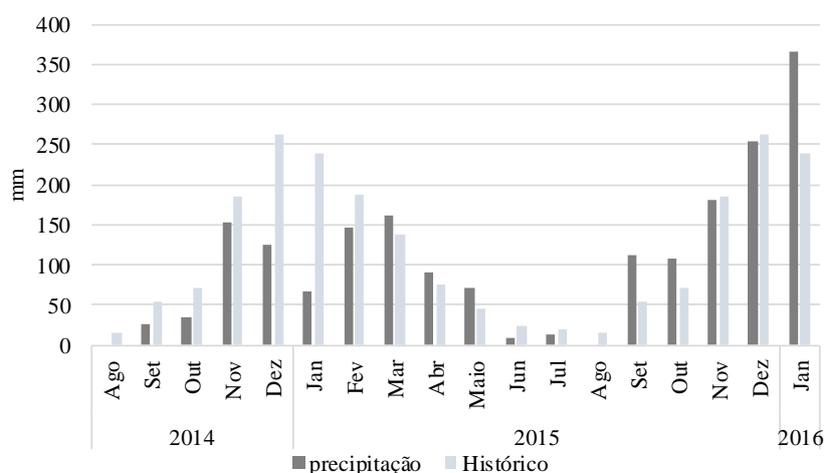


Figura 1. Precipitação médias mensais ao longo do período experimental.

### 2.2. Instalação do experimento e tratamentos

A experimentação foi conduzida durante a 1ª e 2ª socas da variedade IAC 95-500. Na 1ª soca, distribuiu-se os tratamentos logo após a colheita da cana-planta (28/08/2014). O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições e quatro níveis de palha mantidos sobre o solo, ou seja: I0%, I36%, I64% e I100%. Os níveis de palha relativos a estes tratamentos na primeira e segunda soca foram: 0% (0 kg ha<sup>-1</sup>), 36% (4300 e 4700 kg ha<sup>-1</sup>), 64% (7400 e 8300 kg ha<sup>-1</sup>) e 100% (11500 e 13000 kg ha<sup>-1</sup>). A variação na quantidade de palha deixada entre as socas se deve ao fato de que a produção deste resíduo varia com a produtividade de colmos. As parcelas foram compostas por 14 linhas de cana-de-açúcar com 20 m de comprimento e espaçamento entre sulcos de 1,5 m, resultando em uma área total de

420 m<sup>2</sup> e área útil de 342 m<sup>2</sup>. A distribuição da palha para obtenção dos níveis de interesse em cada parcela, em ambas as socas, foi manual usando o método de proporcionalidade (p. ex. de onze entrelinhas foram retiradas quatro e sete, respectivamente, para se obter a quantidade de 4.300 kg ha<sup>-1</sup> e 7.400 kg ha<sup>-1</sup>). Após a remoção, o restante da palha foi redistribuído até a homogeneização da parcela. Para o tratamento I100 manteve-se toda a palha sobre o solo.

Tabela 1. Análise química do solo realizada antes do estabelecimento dos tratamentos e em outubro de 2015

	pH	CT	P	K	Ca	Mg	SB	CTC	H+Al	V
Inicial										
	5,35	17,75	27,50	4,70	41,50	12,50	58,70	87,20	28,50	67,00
Outubro de 2015										
I0	5,17	15,33	18,33	3,10	32,67	9,67	45,43	80,77	35,33	55,80
I36	5,23	18,00	19,33	2,37	39,00	12,33	53,70	87,03	33,33	61,60
I64	5,33	19,00	17,00	3,10	40,33	13,33	56,77	86,43	29,67	65,50
I100	5,30	17,33	18,00	2,50	39,67	13,33	55,50	87,50	32,00	63,50

I0, área sem palha mantida sobre o solo; I36, área com manutenção de 36% de palha; I64, área com manutenção de 64% de palha; I100%, área com manutenção de toda a palha sobre o solo. CT, carbono total, g kg<sup>-1</sup>; P, mg dm<sup>-3</sup>; K, Ca, Mg, mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; SB, soma de bases, cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; CTC, capacidade de troca de cátions, cmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup>; H + Al, cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; V, saturação de bases, %.

O inoculante utilizado em substituição ao fertilizante nitrogenado foi pulverizado sobre as plantas em 25/11/2014 e 26/11/2015 e possuía as seguintes estirpes bacterianas: *Azospirillum amazonense* (BR11145), *Herbaspirillum seropedicae* (BR1135), *H. rubrisubalbicans* (BR11504), *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BR11281T) e *Burkholderia tropica* (BR11366T), todas com funções de fixação biológica de N<sub>2</sub> e síntese de fitohormônios (REIS et al., 2009). A produção do inoculante foi feita na Embrapa Agrobiologia (SCHULTZ et al., 2012). Para a sua aplicação ele foi diluído em água em um volume suficiente para ser pulverizado na área útil de uma parcela. O jato da calda foi direcionado às folhas da soqueira. Esta operação foi repetida por 12 vezes.

É importante enfatizar que não houve aplicação de vinhaça, de torta de filtro ou de irrigação.

### 2.3. Determinação das atividades enzimáticas

A medição da atividade da β-glucosidase (AG) baseou-se na determinação do *p*-nitrofenol liberado após a incubação do solo com uma solução de *p*-nitrofenil glucosídeo, por 2 h a 37°C (TABATABAI, 1994). Para a avaliação da atividade da urease (AU) utilizou-se o método baseado na determinação do amônio liberado após a incubação da amostra de solo com uréia, por 2 h a 37°C (NANNIPIERI et al., 1978) A quantificação do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> produzido pela atividade da urease foi feita pela análise por injeção em fluxo (FIAS 300-Perkin Elmer). A atividade da fosfatase ácida (AFA) foi quantificada incubando-se o solo com *p*-nitrofenilfosfato, por 1 h a 37°C e medindo-se, por absorvância, a quantidade de *p*-nitrofenol formado (TABATABAI, 1994).

#### 2.4. Avaliação da atividade total dos microrganismos

A taxa de atividade de hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) foi utilizada para a determinação da atividade microbiana total do solo. Para a sua quantificação foi utilizada a técnica descrita por Schnürer & Rosswall, (1982).

As análises foram feitas em triplicatas para cada variável e o teor de umidade do solo foi medido de modo a apresentar os resultados analíticos com base no solo seco.

### 3. Resultados e Discussão

As atividades de hidrólise do diacetato de fluoresceína não apresentaram diferenças consistentes entre os tratamentos de níveis de palha tanto no ano de 2015 como no ano de 2016 (Tabela 2). Na primeira coleta ocorreu um ligeiro decréscimo do FDA no tratamento I36, que embora significativo, foi apenas 5% menor que a média dos outros tratamentos. Os resultados também demonstraram que os montantes de palha mantidas no solo não afetaram a AG, que foram maiores no ano de 2016 (Tabela 3). As ausências de respostas entre os tratamentos com relação às FDA e AG não eram esperadas. Estas duas enzimas estão envolvidas na decomposição da matéria orgânica e com o possível maior aporte de C no solo, principalmente o C solúvel, nas áreas onde maiores quantidades de palha foram mantidas no campo, presumia-se que estes parâmetros fossem adequados para que diferenças entre tratamentos, principalmente, com relação ao I0, fossem obtidas. Sabe-se que o C solúvel em água é considerado o substrato orgânico mais ativo e imediato para os microrganismos (McGILL et al., 1986). Por outro lado, uma vez que a área de experimentação foi cultivada com cana por mais de 65 anos, um certo equilíbrio nos processos relativos ao ciclo de C podem ter sido alcançados. É bom enfatizar que a primeira avaliação foi feita no primeiro ano de estabelecimento dos tratamentos. Na segunda, embora mais palha tenha sido adicionada ao solo, as avaliações das atividades enzimáticas somente foram feitas no início do desenvolvimento da cana. Os resultados contrários obtidos para estas duas enzimas, uma com aumento na segunda coleta (AG) e outra com decréscimo (FDA) podem estar relacionados às formações de microclimas diferenciados no solo, em decorrência das diferentes condições de temperatura e de precipitações pluviométricas entre as duas datas.

Tabela 2. Atividade hidrolítica do diacetato de fluoresceína (FDA,  $\mu\text{g}$  FDA hidrolisado  $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$  de solo) em solo cultivado com cana-de-açúcar onde diferentes quantidades de palha foram mantidas sobre o solo.

Tratamentos	Épocas de avaliação	
	Abril de 2015	Janeiro de 2016
I0	6,03 Aa	4,83 Ab
I36	5,30 Ba	4,63 Aa
I64	5,41 ABa	4,18 Ab
I100	5,61 ABa	4,49 Ab
Média	5,59 a	4,53 b

I0, área sem palha mantida sobre o solo; I36, área com manutenção de 36% de palha; I64, área com manutenção de 64% de palha; I100, área com manutenção de toda a palha sobre o solo. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha não são significativamente diferentes (Teste Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

Tabela 3. Atividade da  $\beta$ -glucosidase (AG,  $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  de solo) em solo cultivado com cana-de-açúcar onde diferentes quantidades de palha foram mantidas sobre o solo.

Tratamentos	Épocas de avaliação	
	Abril de 2015	Janeiro de 2016
I0	42,97 Ab	66,81 Aa
I36	45,51 Ab	59,93 Aa
I64	47,11 Aa	59,57 Aa
I100	48,23 Ab	69,91 Aa
Média	45,96 b	64,05 a

I0, área sem palha mantida sobre o solo; I36, área com manutenção de 36% de palha; I64, área com manutenção de 64% de palha; I100, área com manutenção de toda a palha sobre o solo. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha não são significativamente diferentes (Teste Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

Os resultados das atividades da urease apresentaram comportamento diferenciado entre os tratamentos somente na avaliação feita em abril de 2015 (Tabela 4). Neste período a maior atividade foi obtida no tratamento I36 seguido pelos tratamentos I64/I100 e, por fim, pelo tratamento I0. O menor valor obtido no I0 pode indicar um menor potencial do solo sem palha em converter o N-orgânico em N mineral (LANNA et al., 2010). Na segunda avaliação as AU não variaram entre tratamentos e foram, em geral, maiores que as obtidas na coleta anterior. Estes resultados obtidos em 2016 demonstram que a época de avaliação da atividade desta enzima é um fator a ser considerado, quando pretende-se viabilizá-la como indicador de qualidade do solo. Segundo Longo & Melo (2005) a maior atividade da urease ocorre em períodos mais quentes do ano. Em 2016, as maiores temperaturas podem ter ocasionado o aumento na atividade desta enzima igualando-as, independentemente, dos níveis de palha mantidos no solo.

Tabela 4. Atividade da urease (AU,  $\mu\text{g NH}_4^+\text{-N h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  de solo) em solo cultivado com cana-de-açúcar onde diferentes quantidades de palha foram mantidas sobre o solo.

Tratamentos	Épocas de avaliação	
	Abril de 2015	Janeiro de 2016
I0	18,38 Cb	31,85 Aa
I36	26,05 Aa	28,11 Aa
I64	20,11 BCb	31,57 Aa
I100	21,63 Bb	32,72 Aa
Média	21,29 b	31,06 b

I0, área sem palha mantida sobre o solo. I36, área com manutenção de 36% de palha; I64, área com manutenção de 64% de palha; I100%, área com manutenção de toda a palha sobre o solo. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha não são significativamente diferentes (Teste Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

As atividades da fosfatase ácida na avaliação feita em abril de 2015 foram menores no tratamento I0, não apresentando diferenças marcantes entre os tratamentos com deposição da palha (Tabela 5). Em 2016, as AFA foram maiores nos tratamentos I0 e I100 comparativamente

à média dos tratamentos I36 e I64, com todos os valores sendo superiores aos obtidos em 2015. A produção da enzima fosfatase é afetada pela disponibilidade de P no solo sendo favorecida pela baixa disponibilidade deste elemento às plantas e microrganismos (STEGE et al., 2009). Entretanto, a análise química do solo realizada em outubro de 2015 não detectou diferenças entre os níveis de P nos diferentes tratamentos. Os maiores valores relativos à AFA obtidos em janeiro de 2016 podem ser decorrentes das condições climáticas conforme já comentado para as outras atividades enzimáticas. Nunes et al. (2009) observaram em área com monocultura de café que a AFA foi estimulada em períodos de maior disponibilidade de água sendo drasticamente reduzida em períodos de seca.

Tabela 5. Atividade da fosfatase ácida (AFA,  $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  de solo) em solo cultivado com cana-de-açúcar onde diferentes quantidades de palha foram mantidas sobre o solo.

Tratamentos	Épocas de avaliação	
	Abril de 2015	Janeiro de 2016
I0	66,77 Cb	167,12 Aa
I36	91,80 ABb	126,89 Ba
I64	107,08 Ab	122,99 Ba
I100	71,47 BCb	145,66 ABa
Média	84,28 b	140,66 a

I0, área sem palha mantida sobre o solo; I36, área com manutenção de 36% de palha; I64, área com manutenção de 64% de palha; I100%, área com manutenção de toda a palha sobre o solo. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha não são significativamente diferentes (Teste Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

Segundo Dick et al. (1996) solos sob manejos que visam promover sua qualidade devem apresentar maior atividade biológica, o que se reflete em uma produção superior de enzimas e um maior potencial para estabilizá-las e protegê-las, por meio de sua complexação na matriz do solo. No presente experimento, devido ao curto prazo de estabelecimento dos tratamentos, pode não ter havido tempo suficiente para que as atividades enzimáticas e a atividade dos microrganismos do solo apresentassem sólidas diferenças entre áreas com diferentes quantidades de palha.

#### 4. Conclusões

- As atividades da  $\beta$ -glucosidase e da hidrólise do diacetato de fluoresceína não foram eficazes em demonstrar diferenças entre os tratamentos.
- A importância da atividade da urease em demonstrar efeitos na decomposição do N-orgânico foi dependente do período de amostragem do solo.
- A fosfatase ácida foi a enzima que apresentou a maior tendência em demonstrar diferenças entre os tratamentos.
- Em decorrência dos possíveis efeitos da sazonalidade nas atividades enzimáticas seria adequado que mais avaliações fossem feitas ao longo do ano no sentido de diagnosticar qual delas poderia ser considerada como melhor indicador de qualidade de solo.

- As baixas respostas das atividades enzimáticas e de atividade microbiológica obtidas entre tratamentos podem ser decorrentes do período curto de experimentação em uma área que já vinha sendo cultivada com cana por 65 anos.

## 5. Referências

ADAM, G.; DUNCAN, H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 943-951, 2001.

AQUINO, G.S.; MEDINA, C.C.; SHAHAB, M.; SANTIAGO, A.D.; CUNHA, A.C.B.; KUSSABA, D.A.O.; CARVALHO, J.B.; MOREIRA, A. Does straw mulch partial-removal from soil interfere in yield and industrial quality sugarcane? A long term study. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 573-578, 2018.

BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, p. 911-922, 1997.

BENEDUZI, A.; MOREIRA, F.; COSTA, P.B.; VARGAS, L.K.; LISBOA, B.B.; FAVRETO, R.; BALDANI, J.I.; PASSAGLIA, L.M.P. Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolated from sugarcane cultivated in the South of Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 63, p. 94–104, 2013.

CARVALHO, J.L.N.; NOGUEIROL, R.C.; MENANDRO, R.D.O.; BORGES, C.D.; CANTARELLA, H.; FRANCO, H.C.J. Agronomic and environmental implications of sugarcane straw removal: a major review. **Global Change Biology Bioenergy**, v. 9, p. 1181-1195, 2016.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-Açúcar - Safra 2017/2018, primeiro levantamento, abril de 2017. Available at: <http://www.conab.gov.br> (acessado 19 de março de 2019).

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. (Ed.) **Methods of Soil Analysis**. Soil Science Society of America, Madison, WI. Special Publication 49, 1996. p. 247–272.

EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3ª edição. Brasília, DF. 2013. 353 p.

EMBRAPA. Manual de métodos de análise de solo. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Rio de Janeiro. 1997. 212 p.

KHATIWADA, D.; LEDUC, S.; SILVEIRA, S.; MCCALLUM, I. Optimizing ethanol and bioelectricity production in sugarcane biorefineries in Brazil. **Renewable Energy**, v. 85, p. 371-386, 2016.

LANNA, A.C.; SILVEIRA, P.M.; SILVA, M.B.; FERRARESI, T.M.; KLIEMANN, H.J. atividade de urease no solo com feijoeiro influenciada pela cobertura vegetal e sistemas de plantio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1933-1939, 2010.

LEAL, M.R.L.V.; GALDOS, M.V.; SCARPARE, F.V.; SEABRA, J.E.A.; WALTER, A.; OLIVEIRA, C.O.F. Sugarcane straw availability, quality, recovery and energy use: a literature review. **Biomass and Bioenergy**, v. 53, p.11–19, 2013.

LISBOA, I.P.; CHERUBIN, M.R.; LIMA, R.P.; CERRI, C.C.; SATIRO, L.S.; WIENHOLD, B.J.; SCHMER, M.R.; JIN, V.L.; CERRI, C.E.P. Sugarcane straw removal effects on plant growth and stalk yield. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 794-806, 2018.

LONGO, R.M.; MELO, W.J. Atividade da urease em latossolos sob influência da cobertura vegetal e da época de amostragem. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 645-650, 2005.

MCGILL, W.B.; CANNON, K.R.; ROBERTSON, J.A.; COOK, E.D. Dynamics of soil microbial biomass and water-soluble organic C in Breton L after 50 years of cropping to two rotations. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 66, p. 1-19, 1986.

NANNIPIERI, P.; JOHNSON, R.L.; PAUL, E.A. Criteria for measurement of microbial growth and activity in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 10, p. 223-229, 1978.

NUNES, L.A.P.L.; DIAS, L.E.; JUCKSCH, I.; BARROS, N.F.; KASUYA, M.C.M.; CORREIA, M.E.F. Impacto do monocultivo de café sobre os indicadores biológicos do solo na zona da mata mineira. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2467-2474, 2009.

PANDEY, D.; AGRAWAL, M.; BOHRA, J.S. Effects of conventional tillage and no tillage permutations on extracellular soil enzyme activities and microbial biomass under rice cultivation. **Soil and Tillage Research**, v. 136, p. 51-60 2014.

RASOOL, N.; RESHI, Z.A.; SHAH, M.A. Effect of butachlor (G) on soil enzyme activity. **Eurasian Journal of Soil Biology**, v. 61, p. 94-100, 2014.

REIS, V. M.; BALDANI, J.I.; URQUIAGA, S. Recomendação de uma mistura de estirpes de cinco bactérias fixadoras de nitrogênio para inoculação de cana de açúcar. 2009. Seropédica, Embrapa Agrobiologia, 2009. 4p. (Circular Técnica, 30).

REJSEK, K.; VRANOVA, V.; PAVELKA, M.; FORMANEK, P. Acid phosphomonoesterase (e.C.3.1.3.2) location in soil. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 175, p. 196-211, 2012.

SCHNÜRER, J.; ROSSWALL, T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in the soil and litter. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 43, p. 1256-1261, 1982.

SCHULTZ, N.; MORAIS, R.F.; SILVA, J.A.; BAPTISTA, R.B.; OLIVEIRA, R.P.; LEITE, J.M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JÚNIOR, J.B.; ALVES, B.J.R.; BALDANI, J.I.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M. Avaliação agronômica de duas variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 261-268, 2012.

SCHUMACHER, T.E.; EYNARD, A.; CHINTALA, R. Rapid cost-effective analysis of microbial activity in soils using modified fluorescein diacetate method. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 4759-4762, 2015.

SINGH, K.P.; SUMAN, A.; SINGH, P.N.; LAL, M. Yield and soil nutrient balance of sugarcane plant-ratoon system with conventional and organic nutrient management in subtropical India. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 79, p.209-219, 2007.

STEGE, P.W.; MESSINA, G.A.; BIANCHI, G.; OLSINA, R.A.; RABA, J. Determination of arylsulphatase and phosphatase enzyme activities in soil using screen-printed electrodes modified with multi-walled carbon nanotubes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 2444-2452, 2009.

SUMAN, A.; GAUR, A.; SHRIVASTAVA, A.K.; YADAV, R.L. Improving sugarcane growth and nutrient uptake by inoculating *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Plant Growth Regulation**, v. 47, p. 155–162, 2005.

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: WEAVER, R.W., ANGEL, J.S., BOTTOMLEY, P.S. (Ed.) **Methods of Soil Analysis**. Part 2: Microbiological and Biochemical Properties, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, p. 775–833, 1994.

TAULE, C.; MAREQUE, C.; BARLOCCO, C.; HACKEMBRUCH, F.; REIS, V.M.; SICARDI, M.; BATTISTONI, F. The contribution of nitrogen fixation to sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), and the identification and characterization of part of the associated diazotrophic bacterial community. **Plant and Soil**, v. 356, p. 35-49, 2012.

WANG, C.; GUO, P.; HAN, G.; FENG, X.; ZHANG, P. TIA, N.X. Effect of simulated acid rain on the litter decomposition of *Quercus acutissima* and *Pinus massoniana* in forest soil microcosms and the relationship with soil enzyme activities. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 2706-2713, 2010.

YADAV, R.L.; SUMAN, A.; PRASAD, S.R.; PRAKASH, O. Effect of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Trichoderma viride* on soil health, yield and N-economy of sugarcane cultivation under subtropical climatic conditions of India. **European Journal of Agronomy**, v. 30, p. 296–303, 2009.