



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MOLECULARES

ERIK NELSON DE PAIVA MELO

**EFEITO DA SAZONALIDADE SOBRE A ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM SOLOS
DO CERRADO GOIANO**

Anápolis

2014

ERIK NELSON DE PAIVA MELO

**EFEITO DA SAZONALIDADE SOBRE A ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM SOLOS
DO CERRADO GOIANO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Moleculares (nível mestrado) da Universidade Estadual de Goiás

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Samantha Salomão Caramori

Co-Orientador: Prof^º. Dr^º. Manuel Eduardo Ferreira

Anápolis

2014

EFEITO DA SAZONALIDADE SOBRE A ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM SOLOS DO
CERRADO GOIANO

ERIK NELSON DE PAIVA MELO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Moleculares da Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, da Universidade Estadual de Goiás, apresentada como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Moleculares.

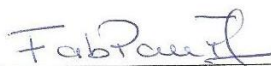
Aprovada por:



Profa. Dra. Samantha Salomão Caramori (UEG)



Profa. Dra. Valdirene Neves Monteiro (UEG)



Profa. Dra. Fabrícia Paula de Faria (UFG)

ANÁPOLIS, GO - BRASIL
JANEIRO 2014

RESUMO

O monitoramento da atividade enzimática em diferentes períodos sazonais pode se constituir em um mecanismo para avaliar a fertilidade de um solo, ou o estado de sua atividade biológica durante todo o ano. As β -glicosidases (EC 3.2.1.21) são enzimas muito encontradas em solos e estão envolvidas na degradação de derivados de celulose. Por sua abundância, estas enzimas são consideradas como um indicador da qualidade do solo. As fosfatases (EC 3.1.3) são enzimas fundamentais na mineralização do fósforo e, conseqüentemente, na ciclagem deste nutriente no ambiente. Elas estão amplamente distribuídas no solo, e têm sido muito estudadas porque catalisam a hidrólise de fósforo orgânico a fósforo inorgânico, disponibilizando-o assim para as plantas. As enzimas fenoloxidase (EC 1.14.18.1) e peroxidase (EC 1.11.1.7) desempenham funções chave no ecossistema, como a degradação da lignina, humificação, mineralização do carbono e degradação de poluentes orgânicos. O objetivo desse estudo foi compreender a influência da sazonalidade e das diferentes classes de uso do solo sobre a atividade de hidrolases e oxidorredutases presentes em solos do Cerrado goiano. O estudo foi realizado na Trilha Interpretativa de Educação Ambiental “Trilha do Tatu”, localizada na Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas (UnUCET) da Universidade Estadual de Goiás (UEG), em Anápolis-GO. As amostras de solos foram coletadas em diferentes épocas do ano, durante o período de Novembro de 2012 a Julho de 2013, nas camadas de 0-15 cm, em ambientes de Cerrado “*sensu stricto*”, Mata Mesófila e pasto. O mapa de uso do solo e os valores de precipitação e índice de vegetação foram obtidos nos bancos de dados da Administração Nacional do Espaço e da Aeronáutica (NASA, EUA) e do Sistema Estadual de Estatística e Informações Geográficas de Goiás (SIEG, Brasil). Foram realizadas as seguintes análises físico-químicas: pH, textura, cor, matéria orgânica e composição química. A atividade enzimática das hidrolases foi determinada utilizando métodos baseados na determinação colorimétrica do *p*-nitrofenol formado após a adição de substratos incolores específicos. A atividade enzimática das oxidorredutases foi determinada por meio do monitoramento do 3-dihidroindol-5,6-quinona-2-carboxilato de metila (DIQC) formado após a adição do substrato específico, com e sem a adição de H₂O₂. A análise de variância (ANOVA Three-way) foi realizada para testar o efeito das variáveis, seguida pelo teste de Tukey para comparação de médias ($P < 0,05$). Os dados de precipitação da área de estudo mostram a presença de dois períodos bem definidos no bioma Cerrado: seco e chuvoso, que exercem influência direta no índice de vegetação. Foram observadas diferenças significativas na atividade da enzima α e β -glicosidase ao longo do ano entre as classes de uso do solo analisadas. Os solos coletados no período chuvoso apresentaram maior atividade de ambas enzimas. Foi observado que quanto maior o teor de carbono no solo, maiores são os valores de atividade das enzimas α e β -glicosidase. Os íons bivalentes, tais como cálcio e magnésio, mostraram desempenhar papéis importantes na catálise enzimática, atuando como co-fatores ou ativadores. A atividade da enzima fosfatase ácida em solos de Cerrado “*ss*” manteve-se constante, entretanto, sofreu variação significativa entre os períodos secos e chuvosos em regiões de Mata Mesófila e pasto. A fosfatase ácida mostrou-se rigorosamente controlada pela demanda biológica, apresentando menor atividade quando o fosfato é mais abundante. A enzima fenoloxidase não apresentou correlação significativa com nenhum dos fatores analisados, entretanto, sua atividade variou significativamente ao longo do ano em solos de Cerrado “*ss*”. A atividade da enzima peroxidase foi estatisticamente maior em áreas de Cerrado “*ss*” durante todo o ano. A composição físico-química do solo, presença de indutores de expressão gênica e ativadores enzimáticos exerceram grande influência sobre a atividade dessa enzima.

Palavras-chave: Enzimas do solo. Fertilidade. Variação sazonal.

ABSTRACT

Monitoring of seasonal enzyme activity may constitute a mechanism to assess the fertility of soil, or the state of their biological activity throughout the year. The enzyme β -glucosidase (EC 3.2.1.21) is found in most soils and is involved in the degradation of cellulose derivatives. For their abundance, this enzyme is considered as an indicator of the quality of the soil. Phosphatases (EC 3.1.3) are fundamental in phosphorus mineralization and hence the cycling of this nutrient in the environment. They are widely distributed in the soil, and have been widely studied because they catalyze the hydrolysis of organic phosphorus to inorganic phosphorus, thus making it available to plants. The enzymes phenol oxidase (EC 1.10.3.1) and peroxidase (EC 1.11.1.7) play key roles in the ecosystem, such as lignin degradation, humification, mineralization of carbon and degradation of organic pollutants. The objective of this study was to understand the influence of seasonality and different land use class on activity of hydrolases and oxidoreductases present in soils of Cerrado in Goiás. The study was conducted in the Interpretative Trail of Environmental Education "Trilha do Tatu" located at The Academic Unit of Exact and Technological Sciences (UnUCET) at the State University of Goiás (UEG) in Anápolis-GO. Soil samples were collected at different times of the year, during the period of November 2012 to July 2013, in the layers of 0-15 cm, in the following environments: Cerrado "ss", mesophytic forest and pasture. The map of land cover and land use and the values of rainfall and vegetation index were obtained from the databases of the National Aeronautics and Space Administration, USA (NASA) and the State System of Statistical and Geographical Information of Goiás, Brazil (SIEG). There were held the following physicochemical properties: pH, texture, color, organic matter and chemistry composition. The enzymatic activity of the hydrolase was determined using methods based on colorimetric determination of *p*-nitrophenol formed after the addition of specific colorless substrate. The enzymatic activity of the oxidoreductases was determined by monitoring 3-dihydroindole-5,6-quinone-2-carboxylate Methyl (DIQC) formed after adding the specific substrate, with and without the addition of H₂O₂. The analysis of variance (ANOVA Three-way) was performed to test the effect of variables, followed by Tukey test for comparison of means ($P < 0.05$). The rainfall data of the study area show the presence of two well defined periods in the Cerrado: dry and rainy, which have a direct influence on the vegetation index. Significant differences were observed in the activity of the enzyme α and β -glucosidase during the year between the classes of land use analyzed. The soils collected in the rainy season showed greater activity of the two enzymes. It was observed that the higher the carbon content in the soil, the higher are the values of α and β -glucosidase activity. Divalent ions, such as calcium and magnesium, probably play important roles in enzymatic catalysis, acting as co-factors or activators. The activity of acid phosphatase in soils of Cerrado "ss" remained constant, however, presented significant difference between the dry and rainy seasons in regions of mesophytic forest and pasture. Acid phosphatase was rigorously controlled by the biological demand, with lower activity when phosphate was abundant. The enzyme phenoloxidase showed no significant correlation with any of the factors analyzed, however, its activity varied significantly throughout the year in Cerrado "ss" soils. The activity of the enzyme peroxidase was statistically higher in areas of Cerrado "ss" throughout the year. The physico-chemical composition of the soil, the presence of inducers of gene expression and enzyme activators exerted great influence on the activity of this enzyme.

Keywords: Soil enzymes. Fertility. Seasonal variation.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	1
LISTA DE TABELAS	2
LISTA DE FIGURAS	3
1. INTRODUÇÃO	5
2. REFERENCIAL TEÓRICO	7
2.1 Solos do Cerrado	7
2.2. Biomassa microbiana.....	7
2.3. α -glicosidase	8
2.4. β -glicosidase	11
2.5. Fosfatases	13
2.6. Fenoloxidase.....	15
2.7. Peroxidase.....	17
2.8. Atividade microbiana e enzimática como bioindicadores da qualidade do solo.....	18
3. OBJETIVOS	20
3.1. Objetivo Geral:	20
3.2. Objetivos Específicos:	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1 Área de estudo e amostragem.....	21
4.2. Procedimentos e análises de banco de dados.....	22
4.3. Propriedades físico-químicas do solo	23
4.4. Carbono da Biomassa Microbiana.....	23
4.5. Ensaio enzimático.....	24
4.5.1. Hidrolases	24
4.5.2. Oxidorredutases	24
4.6. Análises estatísticas	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1. Precipitação sazonal e índice de vegetação da área de estudo	26
5.2. Uso do solo	26
5.3. Propriedades físico-químicas do solo	28
5.4. Carbono da Biomassa Microbiana.....	30
5.5. α e β -glicosidase	31

5.6. Fosfatase ácida.....	34
5.7. Fenoloxidase.....	35
5.8. Peroxidase.....	36
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
7. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	40
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
LISTA DE APÊNDICES	51
APÊNDICE 1	52
APÊNDICE 2	55

LISTA DE ABREVIATURAS

CTC – Capacidade de Troca Catiônica

DIQC – 3-dihidroindol-5,6-quinona-2-carboxilato de metila

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EVI – Índice de Vegetação Avançado

INPE – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais

kDa – Quilodalton

NASA – Administração Nacional do Espaço e da Aeronáutica

Pi – Fósforo inorgânico

SIEG – Sistema Estadual de Estatística e Informações Geográficas de Goiás

TRMM – Satélite Tropical de Medição de Precipitações

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades físico-químicas das amostras de solos coletados em diferentes classes de uso durante o período de chuva e seca.....	29
Tabela 2. Valores de Carbono da Biomassa Microbiana durante o período de chuva e seca, em diferentes classes de uso do solo.	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reação catalisada pela enzima α -glicosidase (BRENDA: The Comprehensive Enzyme, http://www.brenda-enzymes.org/)	9
Figura 2. Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b) (Corradini et al., 2005).....	9
Figura 3. Representação esquemática da ação das enzimas amilolíticas. Os círculos pretos indicam açúcares redutores, e as flechas representam a posição em que as enzimas amilolíticas podem hidrolisar (BERTOLDO; ANTRANIKIAN, 2002)	10
Figura 4. Reação catalisada pela enzima β -glicosidase (BRENDA: The Comprehensive Enzyme, http://www.brenda-enzymes.org/)	12
Figura 5. Atividade das enzimas do complexo celulase (CASTRO; PEREIRA, 2010)	13
Figura 6. Esquema geral da reação catalisada pela enzima fosfatase (BRENDA: The Comprehensive Enzyme, http://www.brenda-enzymes.org/)	13
Figura 7. Mecanismo de ação da enzima fosfatase ácida (LINDQVIST, Y et al., 1994).....	15
Figura 8. Reação catalisada pela classe das lacases (BRENDA: The Comprehensive Enzyme, http://www.brenda-enzymes.org/)	16
Figura 9. Reação catalisada pela classe das tirosinases (BRENDA: The Comprehensive Enzyme, http://www.brenda-enzymes.org/)	16
Figura 10. Mecanismo de ação catalítica de peroxidases (CHANCE; MAEHLI, 1955)	17
Figura 11. Esquema representando as condições ambientais que controlam a atividade das enzimas oxidativas no solo (SINSABAUGH, 2010)	18
Figura 12. Áreas de coleta das amostras de solos. A) Cerrado “ss”, B) Mata Mesófila, C) pasto.....	21
Figura 13. Mapa de localização da área de estudo. Em destaque o município de Anápolis e o Campus da Universidade Estadual de Goiás. Os pontos (●) representam os locais de coleta das amostras de solos.....	22
Figura 14. Precipitação (A) e índice de vegetação (B) das diferentes classes de uso do solo presentes na área de estudo durante os anos de 2011 e 2012	27
Figura 15. Mapa de uso do solo na área de estudo, com ênfase nas áreas de Cerrado, mata mesófila e pasto presentes nos locais de amostragem	28
Figura 16. Atividade anual da enzima α -glicosidase em diferentes classes de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre as classes de uso do solo, enquanto diferentes letras maiúsculas representam variações significativas entre os	

períodos do ano ($P < 0,05$; ANOVA Three-way seguida pelo teste de Tukey <i>post-hoc</i>)	32
Figura 17. Atividade anual da enzima β -glicosidase em diferentes classes de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre as classes de uso do solo, enquanto diferentes letras maiúsculas representam variações significativas entre os períodos do ano ($P < 0,05$; ANOVA Three-way seguida pelo teste de Tukey <i>post-hoc</i>)	33
Figura 18. Atividade anual da enzima fosfatase ácida em diferentes classes de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre as classes de uso do solo, enquanto diferentes letras maiúsculas representam variações significativas entre os períodos do ano ($P < 0,05$; ANOVA Three-way seguida pelo teste de Tukey <i>post-hoc</i>)	34
Figura 19. Atividade anual da enzima fenoxidase em diferentes classes de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre as classes de uso do solo, enquanto diferentes letras maiúsculas representam variações significativas e entre os períodos do ano ($P < 0,05$; ANOVA Three-way seguida pelo teste de Tukey <i>post-hoc</i>)	36
Figura 20. Atividade anual da enzima peroxidase em diferentes classes de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre as classes de uso do solo, enquanto diferentes letras maiúsculas representam variações significativas e entre os períodos do ano ($P < 0,05$; ANOVA Three-way seguida pelo teste de Tukey <i>post-hoc</i>).....	37

1. INTRODUÇÃO

A qualidade do solo é definida como a capacidade deste em funcionar dentro dos limites dos ecossistemas, visando sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade ambiental, e promover a saúde das plantas e animais (DORAN; PARKIN, 1994). A avaliação da qualidade de um solo, para ter confiabilidade e consistência, exige um método sistemático para se determinar e interpretar as propriedades que possam ser usadas como indicadores, e então representarem eficientemente as funções que um solo pode exercer (TÓTOLA; CHAER, 2002).

De forma geral os indicadores que servem para monitorar a qualidade do solo, tanto biológicos quanto químicos e físicos, apresentam alguns requisitos básicos para exercerem tal atribuição. É necessário que eles representem as propriedades ou funções do solo, sejam sensíveis a variações em longo prazo no manejo e no clima, permitam medição aprimorada e precisa para diferentes tipos de solo e distintas condições edafoclimáticas (STENBERG, 1999; TURCO; BLUME, 1999).

Os indicadores biológicos podem revelar diferentes aspectos da qualidade do solo (ELLIOTT, 1997), por esse motivo são frequentemente utilizados para monitorar três funções ou parâmetros básicos: estrutura ou desenvolvimento do solo, estoque de nutrientes e atividade biológica (GREGORICH et al., 1994).

A atividade enzimática do solo é um indicador sensível que pode ser utilizado no monitoramento de alterações ambientais decorrentes do uso agrícola, sendo uma ferramenta para orientar o planejamento e a avaliação das práticas de manejo utilizadas (DORAN; PARKIN, 1994; ACOSTA-MARTINEZ et al., 2014). A avaliação da atividade enzimática pode ser útil para indicar em que medida o solo está desempenhando seu potencial de ciclagem de nutrientes, nitrificação, oxidação e outros processos vitais à sua fertilidade. Há ainda a vantagem de que os métodos utilizados para mensurar a atividade das enzimas do solo são geralmente simples, rápidos, acurados e reproduzíveis (TABATABAI, 1994).

Bergstrom et al. (1998) constataram que a maioria das enzimas de solo apresenta um padrão de atividade variável ao longo do ano, em função das condições climáticas e de seus respectivos efeitos sobre a atividade do seres vivos presentes no solo. Essas variações que ocorrem no ambiente ao longo do ano afetam cada enzima de maneira distinta. A atividade da enzima fosfatase ácida (EC 3.1.3), por exemplo, é afetada por mudanças microclimáticas e

características químicas do solo, enquanto que as enzimas que degradam lignocelulose, como glicosidases, são reguladas pela disponibilidade de substrato, o qual também é afetado pela sazonalidade (SINSABAUGH et al., 1993).

A avaliação da atividade da enzima β -glicosidase (EC 3.2.1.21) é sugerida, devido a sua relação com o ciclo do carbono no solo e a sensibilidade destes indicadores para detectar alterações decorrentes de práticas agrícolas (DICK; TABATABAI, 1993; GIL-SOTRES et al., 2005). A atividade de enzimas como fosfatases ácidas tem sido amplamente estudada devido à sua importância na mineralização do fosfato orgânico, liberando ortofosfatos que são facilmente assimilados por plantas e microrganismos do solo (SYLVIA et al., 1999).

As enzimas fenoloxidase (EC 1.10.3.2) e peroxidase (EC 1.11.1.7) desempenham funções chave no ecossistema, como a degradação da lignina, humificação e mineralização do carbono (SINSABAUGH, 2010). O complexo enzimático degradador da lignina tem sido descrito como responsável pela degradação de vários poluentes orgânicos (POINTING, 2005).

Variações significativas de temperatura ou umidade durante o ano influenciam consideravelmente nos processos do solo dos biomas, incluindo a decomposição de matéria orgânica. Os fatores climáticos foram identificados como principais causas das diferenças sazonais observadas nas taxas de decomposição em tais ambientes, devido a alterações de várias enzimas extracelulares (CRIQUET et al., 2002; PRIETZEL, 2001). Os efeitos da temperatura sobre a atividade de enzimas selecionadas têm sido demonstrados repetidamente (ISE; MOORCROFT, 2006).

Medidas de avaliação da atividade de uma determinada enzima em diferentes períodos sazonais podem se constituir em um mecanismo para avaliar e monitorar a fertilidade de um solo, ou o estado de sua atividade biológica durante todas as estações do ano. Devido à escassez de conhecimento sobre o funcionamento biológico dos solos da região dos Cerrados, cada vez torna-se mais frequente as pesquisas que favoreçam um melhor entendimento dessas características em diferentes períodos do ano. Neste trabalho procurou-se compreender a influenciada sazonalidade e de diferentes classes de uso do solo sobre a atividade de hidrolases e oxidorreduções presentes em solos do Cerrado goiano.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Solos do Cerrado

O bioma Cerrado é uma unidade ecológica típica de zona tropical, abrangendo uma área de aproximadamente 204 milhões de hectares e é caracterizado por uma vegetação de fisionomias e flora bem característica (RAMALHO FILHO; BEEK, 1994). A paisagem do Cerrado distingue-se por um gradiente de biomassa que vai desde o campo limpo de cerrado ao cerradão, passando pelo campo sujo de cerrado, campo cerrado e cerrado (*sensu stricto*) (RIBEIRO; WALTER, 1998).

Os solos do Cerrado são altamente dependentes da matéria orgânica, muito intemperizados e permeáveis, com baixa capacidade de retenção de água e troca catiônica, mas bem estruturados e com alta estabilidade de agregados (GOEDERT, 1987). Os solos do Cerrado apresentam características morfológicas bastante variadas, tendo cores que variam entre vermelho escuro a amarelo, são classificados predominantemente como Latossolos seguido dos Argissolos e Neossolos Quartzarênicos. São bastante porosos e com textura que varia entre média e argilosa a muito argilosa. Em relação às características químicas, por serem solos antigos, geralmente são distróficos, com altos teores de ferro e alumínio, pH ácido e com poucas áreas naturalmente férteis (ADÁMOLI et al., 1986).

2.2. Biomassa microbiana

A biomassa microbiana do solo é considerada a parte viva e mais ativa da matéria orgânica, geralmente expressa em μg de C g^{-1} de solo seco. É constituída por fungos, bactérias e actinomicetos que atuam em processos que vão desde a formação do solo (intemperização das rochas) até a decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, biorremediação de áreas contaminadas por poluentes, entre outros. A biomassa microbiana representa em média, 1% a 4% do C orgânico (SCHLOTTER et al., 2003).

Segundo Smith e Paul (1990), a biomassa microbiana é um importante reservatório de nutrientes no solo que se recicla rapidamente, tornando-os disponíveis para as plantas. Ela é composta por muitos elementos essenciais ao desenvolvimento desses seres vivos, regulando o fornecimento e a disponibilidade de nutrientes como o nitrogênio, fósforo e potássio no solo. Em solos de clima tropical, a biomassa microbiana assume papel muito importante como

fonte de nutrientes facilmente disponíveis para os microrganismos do solo e plantas (FEIGL et al., 1995).

Correlações positivas entre a matéria orgânica e a biomassa microbiana do solo são comumente reportadas, mostrando ser essa uma relação bastante estreita. Alterações significativas na biomassa microbiana podem ser detectadas com antecedência quando comparadas às mudanças na matéria orgânica (ROSCOE et al., 2006). A avaliação da biomassa microbiana tem sido proposta como um indicador do estado e das alterações da matéria orgânica do solo, e sugerida como uma medida sensível do aumento ou decréscimo de sua quantidade (TÓTOLA; CHAER, 2002).

Ainda que represente uma pequena fração do carbono orgânico total do solo, a biomassa microbiana é um indicador sensível de mudanças nesse ecossistema, principalmente por causas antropogênicas. Por representar a parte viva do solo, ela é influenciada pela disponibilidade de nutrientes, umidade, aeração, e pH do solo, e ainda pelos tipos de argila e minerais do solo. Apesar de ser uma medida da população viva do solo, a biomassa microbiana é pouco informativa quando apresentada isoladamente (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

2.3. α -glicosidase

Devido à ampla variedades de ligações glicosídicas que ocorrem naturalmente, existe uma vasta diversidade de enzimas, denominadas glicosidases, cuja função é a clivagem destas ligações. Esta diversidade é, presumivelmente, consequência da natureza diversa de seus substratos, e também das diferentes soluções evolucionárias para o problema da construção de sítios ativos capazes de hidrolisar ligações glicosídicas (WITHERS, 2001).

As α -glicosidases (EC 3.2.1.20 α -D-glicosideo glicohidrolase) estão envolvidas na etapa final da hidrólise do amido e de outros carboidratos, são exoamilases que catalisam preferencialmente a hidrólise das ligações glicosídicas α -1,4 da extremidade não redutora de sacarídeos curtos, e liberam unidades de α -D-glicose (Fig. 1) (OKUYAMA et al., 2001; VIHINEN; MÄNTSÄLÄ, 1989).

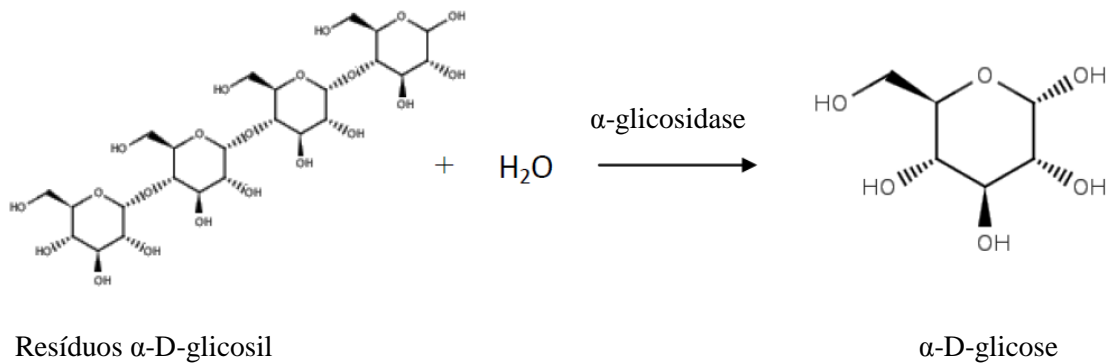


Figura 1. Reação catalisada pela enzima α -glicosidase (BRENDA: The Comprehensive Enzyme, <http://www.brenda-enzymes.org/>).

O amido pode ser formado por dois tipos de polímeros de glicose, amilose e amilopectina, que aparecem em diferentes proporções na molécula de acordo com a fonte do amido (Fig. 2) (ELIASSON, 2004).

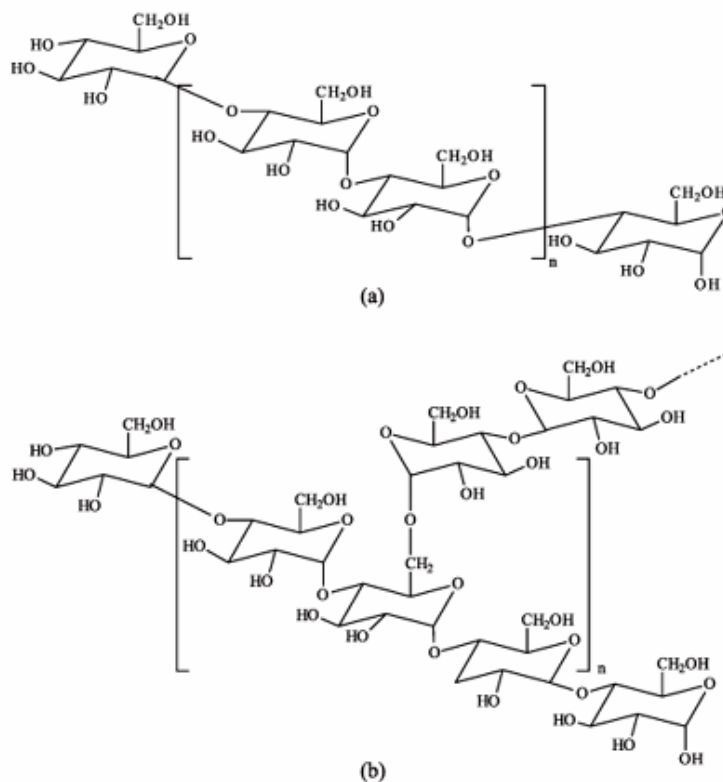


Figura 2. Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b) (Corradini et al., 2005).

Geralmente os organismos produzem vários tipos de enzimas para hidrolisar o amido, pois as propriedades e especificidades dessas enzimas são muito diferentes. Os mecanismos de ação das amilases podem ser divididos em duas categorias: as endoamilases que hidrolisam o interior da molécula de amido liberando oligossacarídeos, e as exoamilases que atuam a partir da extremidade não-redutora, resultando em produtos menores (BERTOLDO; ANTRANIKIAN, 2002) (Fig. 3).

Algumas α -glicosidases também hidrolisam as ligações α -1,1, α -1,2, α -1,3 e α -1,6 presentes em outros oligossacarídeos não derivados do amido (OKUYAMA et al., 2001; GIANNESI et al., 2006). Com base na semelhança da sequência de aminoácidos, elas estão agrupadas em famílias glicosil hidrolases 13 e 31 (HENRISSAT, 1991).

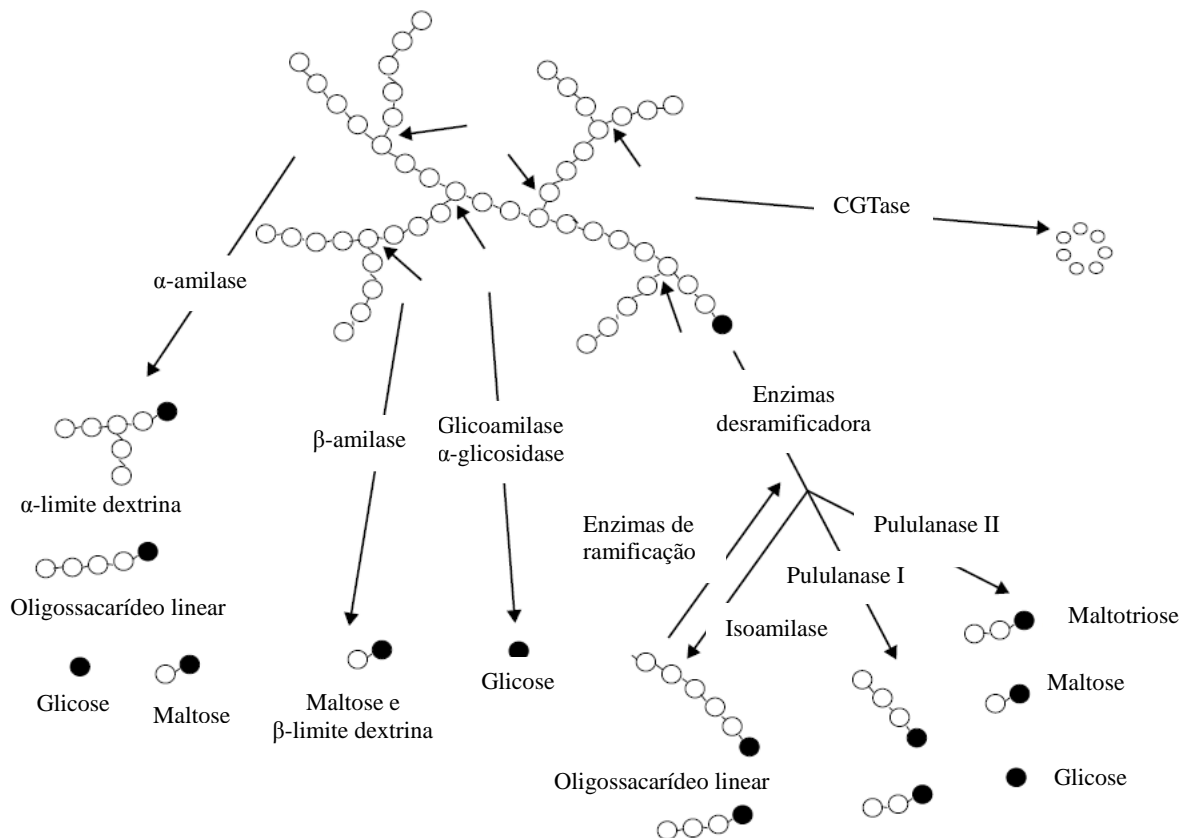


Figura 3. Representação esquemática da ação das enzimas amilolíticas. Os círculos pretos indicam açúcares redutores, e as flechas representam a posição em que as enzimas amilolíticas podem hidrolisar (BERTOLDO; ANTRANIKIAN, 2002).

Em concentrações elevadas de substrato, a enzima α -glicosidases também catalisa a reação de transferência para formar oligossacarídeos. A enzima é amplamente distribuída em

microrganismos (OLUSANYA; OLUTIOLA, 1986; SCHÖNERT et al., 1998), plantas (YAMASAKI; KONNO, 1991; IM; HENSON, 1995), mamíferos (DISSOUS et al., 1981) e insetos (NISHIMOTO et al., 2001; SOUZA-NETO et al., 2007). Com base na especificidade do substrato, a enzima é classificada em três grupos, tipo I, II e III (CHIBA, 1988).

As enzimas α -glicosidases do tipo I hidrolisam glicosídeos de aril, tais como o *p*-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo mais rapidamente do que malto-oligossacarídeos curtos. No entanto, o tipo II é mais ativo em maltose e tem baixa atividade para glicosídeos arila. Tipo III se assemelha a do tipo II, mas hidrolisa oligossacarídeos e amido em taxas similares, sendo capaz de hidrolisar o amido solúvel (FRANSEN et al., 2002).

A atividade da enzima α -glicosidase está significativamente relacionada a biomassa microbiana e, conseqüentemente, à fertilidade do solo (FRANKENBERGER; DICK, 1983).

2.4. β -glicosidase

As enzimas β -glicosidases (E.C. 3.2.1.21, β -D-glicosídeo glicohidrolases) formam um grupo de enzimas biologicamente importantes que ocorrem em inúmeros organismos, tanto procarióticos quanto eucarióticos, desempenhando diversas funções (JIANG et al., 2011). É uma das enzimas mais encontradas em solos e estão envolvidas no ciclo do carbono (BHATIA et al., 2002).

As β -glicosidase formam um grupo altamente heterogêneo de enzimas hidrolíticas (MASCIANDARO et al., 2008). A principal reação catalisada por estas enzimas é a hidrólise de ligações β -glicosídicas em glicosídeos de baixa massa molecular (Fig. 4) (HAN; CHEN, 2008). O nome β -glicosidase é dado a diferentes tipos de enzimas capazes de hidrolisar ligações β -glicosídicas em dissacarídeos, oligossacarídeos e glicosídeos conjugados (BHATIA et al., 2002; JIANG et al., 2011).

Estas enzimas são encontradas em diferentes organismos, como bactérias (PAINBENI et al., 1992; YANG et al., 1995), fungos (STEWART; HEPTINSTALL, 1988; YUN et al., 2004; FUKUDA et al., 2007), plantas (MAZZUCA et al., 2006; HAN; CHEN, 2008) e animais (GLEW et al., 1976; YAPI et al., 2009), incluindo o ser humano (LEMARCO; GLEW, 1985; BERRIN et al., 2003).

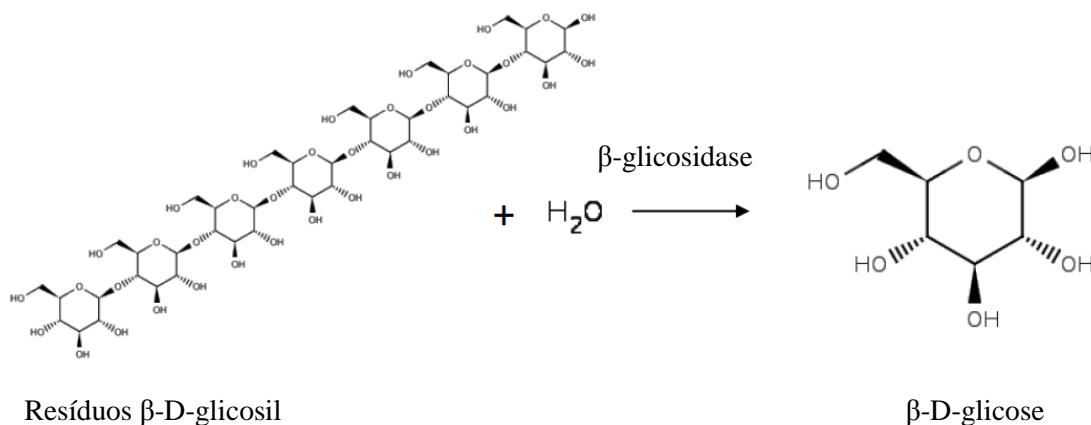


Figura 4. Reação catalisada pela enzima β -glicosidase (BRENDA: The Comprehensive Enzyme, <http://www.brenda-enzymes.org/>).

As β -glicosidase são geralmente classificadas por dois métodos, o primeiro deles é baseado na especificidade em relação ao substrato, e o segundo na similaridade entre suas sequências de aminoácidos e conformação. O último método é o mais aceito atualmente, uma vez que pode refletir características estruturais, relações evolucionárias e o mecanismo catalítico destas enzimas (BHATIA et al., 2002).

O interesse pelo estudo da enzima β -glicosidase surgiu devido ao seu envolvimento na conversão biológica da celulose (ZANOELO et al., 2004). A celulose, principal componente da biomassa vegetal, representa uma importante fonte renovável de carbono que pode ser utilizada na produção de combustíveis, alimentos, entre outros produtos (LYND et al., 2002).

Um complexo multienzimático é necessário para a realização da hidrólise enzimática da celulose em açúcares solúveis, três classes de enzimas participam desse processo: endoglicanases (EC 3.2.1.4), exoglicanases (EC 3.2.1.91) e β -glicosidases (E.C. 3.2.1.21) (Fig. 5) (TURNER et al., 2002).

As endoglicanases clivam de forma randômica, ligações internas nas microfibrilas das regiões amorfas da fibra de celulose, gerando novas extremidades livres. As exoglicanases (celobiohidrolases) atuam de maneira progressiva nas extremidades redutoras (celobiohidrolases I) e não redutoras (celobiohidrolases II) dos oligossacarídeos produzidos pela ação das endoglicanases, formando principalmente moléculas de celobiose, que por sua vez são clivadas por β -glicosidase, liberando glicose (LYND et al., 2002; LIU et al., 2012).

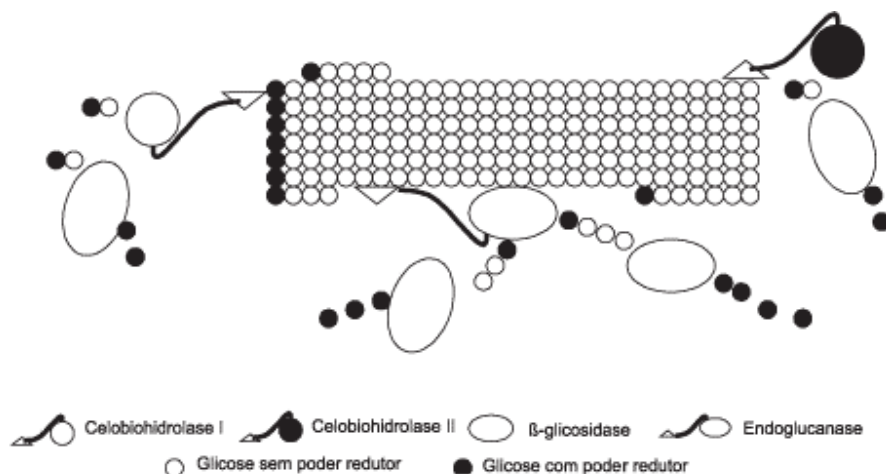


Figura 5. Atividade das enzimas do complexo celulase (CASTRO; PEREIRA, 2010).

2.5. Fosfatases

As fosfatases (E.C. 3.1.3) são hidrolases que se encontram amplamente distribuídas na natureza, em diversas formas moleculares e utilizam como substratos fosfoésteres (Fig. 6). As fosfatases podem ser constitutivas ou reprimíveis por fosfato. As fosfatases constitutivas são sintetizadas independentemente da constituição do meio em que atuam, já as reprimíveis são sintetizadas apenas na presença de concentrações limitantes de fosfato (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004). A baixa concentração de fosfato é necessária para que ocorra a ativação de fatores de transcrição e expressão dessa enzima (LEAL et al., 2007). De acordo com seu pH ótimo de ação, as fosfatases podem ser classificadas como ácidas ou alcalinas (CRIQUET et al., 2004).

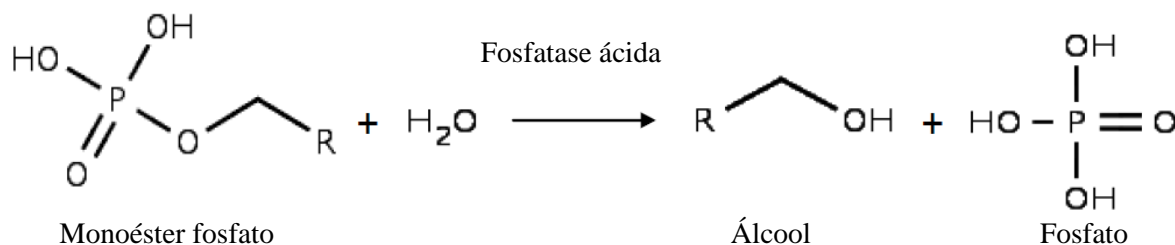


Figura 6. Esquema geral da reação catalisada pela enzima fosfatase (BRENDA: The Comprehensive Enzyme, <http://www.brenda-enzymes.org/>).

As fosfatases são fundamentais na mineralização do fósforo e, conseqüentemente, na ciclagem deste nutriente no ambiente. Elas estão amplamente distribuídas no solo e têm sido muito estudadas porque catalisam a hidrólise de fósforo orgânico a fósforo inorgânico, disponibilizando-o assim para as plantas (TABATABAI, 1994; TURNER; HAYGARTH, 2005).

As fosfatases produzidas por certos microrganismos catalisam a hidrólise de ésteres disponibilizando fontes inorgânicas de fósforo para as plantas. Isso mostra que a contribuição dos microrganismos para fornecer este elemento para o solo, através de sua atividade enzimática, pode ser significativa. A biomassa microbiana não só imobiliza o fósforo, formando um reservatório lábil deste nutriente como também representa importante função nos processos de mineralização e solubilização deste elemento (MENDES et al., 2003).

Apesar da ocorrência dos vários microrganismos presentes no solo com capacidade para mineralizar e/ou solubilizar o fósforo, essas comunidades apresentam um número reduzido, quando comparado com outros organismos que estão na região rizosférica. Isto diminui a competição entre essas comunidades e torna insuficiente o fósforo liberado por essa microbiota, o que prejudica a promoção de reserva para o crescimento da planta (MENDES; REIS JÚNIOR, 2003).

Ao contrário do que acontece com o nitrogênio, a principal fonte de fósforo nos ecossistemas naturais não vem da atividade microbiana, mas do intemperismo de minerais à base de fosfato de cálcio, já que no ciclo do fósforo não há um processo biológico tão eficiente e específico para suprir as necessidades reais de um habitat carente desse elemento, como é o caso da fixação biológica do nitrogênio (ADUAN et al., 2004).

As fosfatases ácidas (E.C. 3.1.3.2) apresentam um pH ótimo para catálise inferior a 6,0 e utilizam como substratos compostos com baixa massa molecular (ADUAN et al., 2004). Segundo Araújo et al. (1976), as fosfatases ácidas de diversas origens podem ser divididas em dois grupos: uma de baixa e a outra de alta massa molecular. As fosfatases de baixa massa molecular, menores que 50 kDa, possuem especificidade variável. Já as fosfatases de alta massa molecular, acima de 90 kDa, são estritamente hidrolases monoéster-fosfórico.

Em geral, as fosfatases ácidas hidrolisam fosfoésteres através de um mecanismo que envolve dois passos. No primeiro, o complexo enzima-substrato sofre um ataque nucleofílico por um grupo da enzima, produzindo um intermediário covalente fosforil-enzima e álcool. A hidrólise desse intermediário resulta na formação de um segundo produto, o fosfato inorgânico (Fig. 7) (VICENT et al., 1992). No caso das fosfatases ácidas de alta massa

molecular, a histidina do sítio ativo realiza esse ataque nucleofílico, levando à formação de um intermediário fosforilado, a fosfohistidina, liberando-se fosfato inorgânico e o sítio ativo para um novo ciclo catalítico (KOSTREWA et al., 1999).

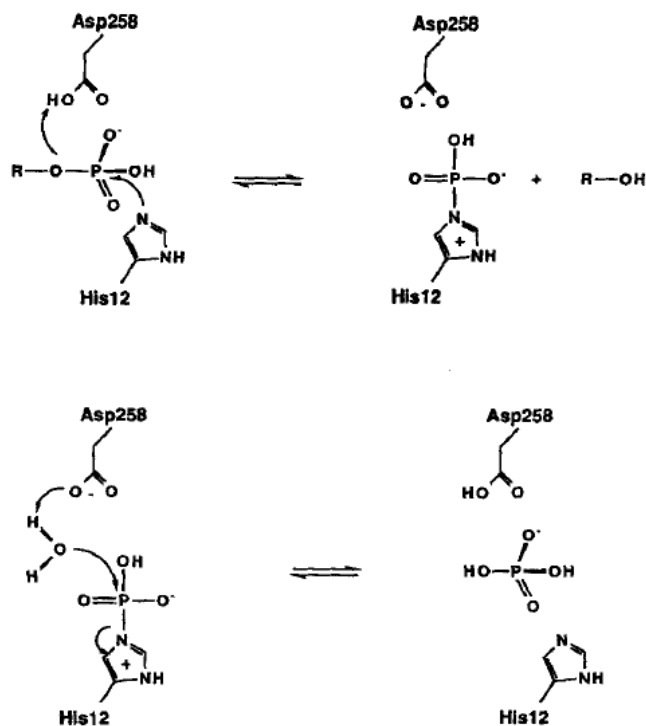


Figura 7. Mecanismo de ação da enzima fosfatase ácida (LINDQVIS, Y et al., 1994).

2.6. Fenoloxidase

Microrganismos e plantas produzem fenoloxidases (EC 1.14.18.1) intra e extracelulares para diferentes propósitos. Em geral, fenoloxidases são produzidas por fungos e bactérias para atenuar a toxicidade de moléculas fenólicas e íons metálicos, auxiliando na defesa microbiana (SINSABAUGH, 2010).

Independente da sua origem e função inicial, as fenoloxidases liberadas no meio ambiente por secreção ou lise celular são enzimas que catalisam reações não específicas, incluindo a oxidação de Mn^{2+} e Fe^{2+} , e que podem polimerizar, despolimerizar, e transformar uma ampla gama de moléculas fenólicas.

As fenoloxidases compreendem duas classes principais de enzimas distintas, cuja diferença está relacionada à especificidade dos substratos. A primeira, denominada lacase (EC 1.10.3.2), não atua sobre monofenóis e tem ação restrita a oxidação de orto e para-difenóis

(Fig. 8). A bioquímica de lacases fúngicas, tem sido amplamente avaliada devido a sua participação na degradação da lignina (SINSABAUGH, 2010). O complexo enzimático degradador da lignina tem sido descrito como responsável pela degradação de vários poluentes orgânicos (POINTING, 2005). A segunda classe, denominada tirosinase, cresolase, fenolase ou fenol mono-oxigenase (EC 1.14.18.1) recebem grande destaque, pois são responsáveis pelo escurecimento oxidativo dos tecidos (NÚÑEZ-DELICADO et al., 2003) (Fig. 9).

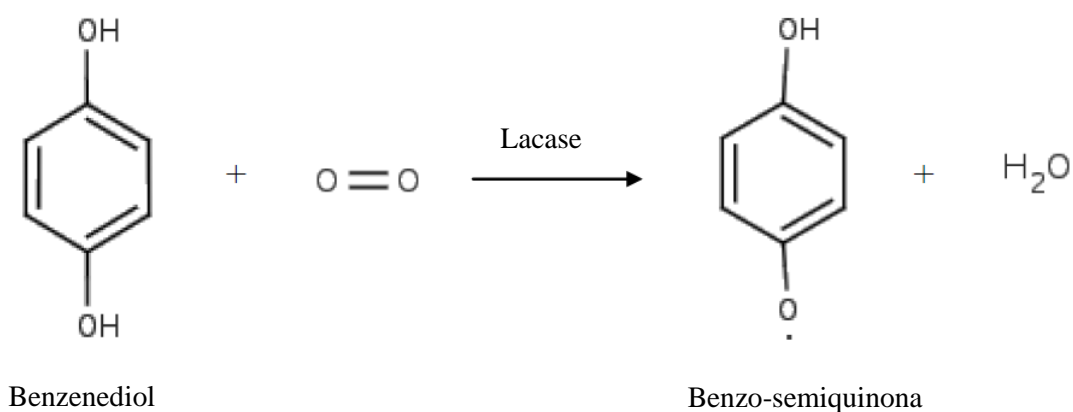


Figura 8. Reação catalisada pela classe das lacases (BRENDA: The Comprehensive Enzyme, <http://www.brenda-enzymes.org/>).

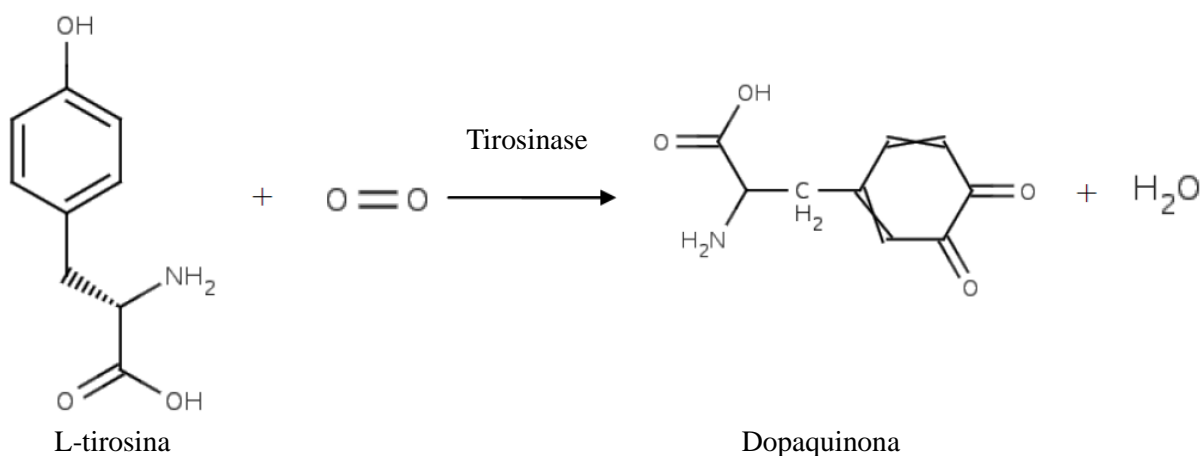


Figura 9. Reação catalisada pela classe das tirosinases (BRENDA: The Comprehensive Enzyme, <http://www.brenda-enzymes.org/>).

Compostos fenólicos estão presentes em variados produtos químicos agrícolas e

industriais, podendo ser degradados no solo pela ação das enzimas fenoxidases. As reações catalisadas por fenoxidases afetam a atividade e composição das comunidades microbianas do solo, devido à toxicidade das moléculas fenólicas (SINSABAUGH, 2010).

2.7. Peroxidase

Peroxidases (EC 1.11.1.7) são enzimas que utilizam peróxido de hidrogênio ou outros peróxidos para a oxidação de uma grande variedade de substratos. Pela ação das peroxidases o peróxido de hidrogênio é convertido à água e oxigênio, e os elétrons transferidos para o íon peróxido são advindos de derivados fenólicos, aminas aromáticas e alguns compostos metoxilados (Fig. 10). Todas as classes de peroxidases tem em comum o fato de conterem ferro ou cobre e serem geralmente hemoproteínas (SINSABAUGH, 2010).

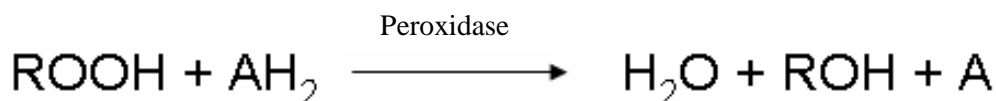


Figura 10. Mecanismo de ação catalítica de peroxidases (CHANCE; MAEHLI, 1955).

A produção da enzima peroxidase parece ser uma resposta ao estresse oxidativo, ou seja, um aumento na concentração de espécies reativas de oxigênio (RABINOVICH et al., 2004). Assim como as fenoxidases, a expressão da enzima também é induzida por diversos compostos fenólicos, sugerindo que essas enzimas também desempenham um importante papel na desintoxicação. A disponibilidade de Manganês também é um fator que regula a expressão dessa enzima. Alta disponibilidade de manganês aumenta o estresse oxidativo e ocasiona a expressão de manganês peroxidase (EC 1.11.1.13), em vez de lignina peroxidase (EC 1.11.1.14) (SINSABAUGH, 2010). Em solos os fungos produzem manganês peroxidase, lignina peroxidase e outras peroxidases que são conhecidas por seu papel na despolimerização da lignina.

Além de reações enzimáticas, a matriz mineral do solo em si contribui para o seu potencial oxidativo. Qualquer processo abiótico que gera espécies reativas de oxigênio contribui para a transformação oxidativa de matéria orgânica (RABINOVICH et al., 2004). As peroxidases desempenham papel importante na formação e degradação de substâncias húmicas (HAIDER et al., 1975).

Fatores que influenciam as atividades de peroxidase em solos incluem a concentração de compostos fenólicos solúveis, o teor de lignina da serrapilheira, o pH do solo e disponibilidade de nitrogênio (SINSABAUGH, 2010) (Fig. 11).

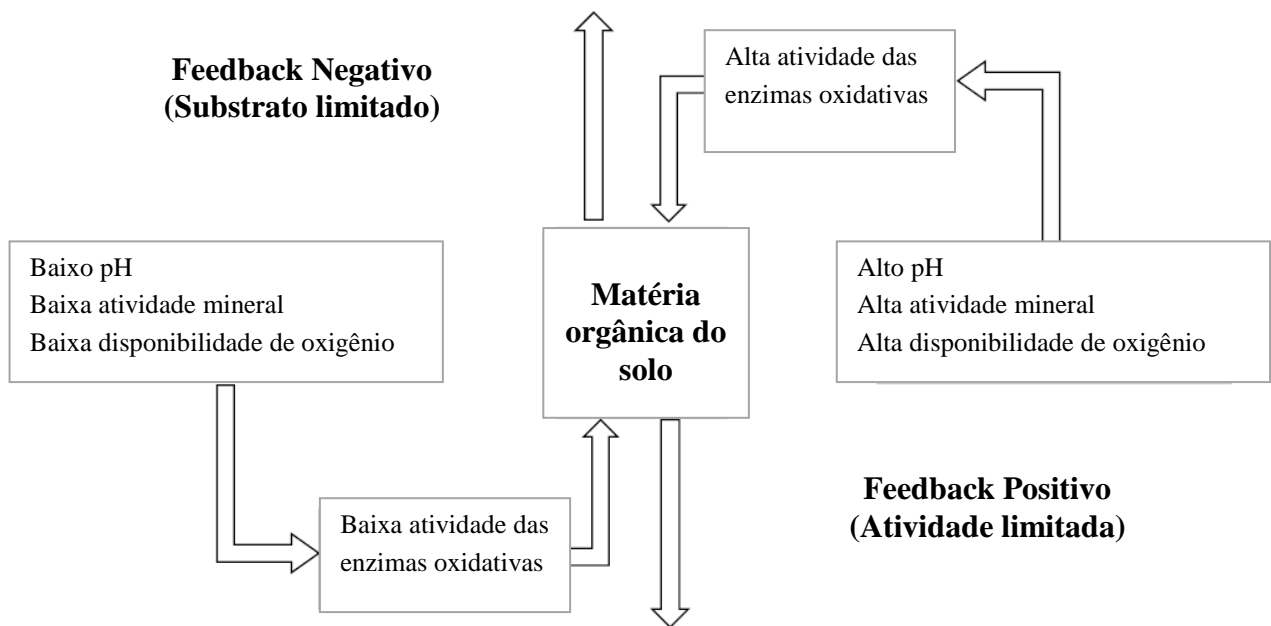


Figura 11. Esquema representando as condições ambientais que controlam a atividade das enzimas oxidativas no solo (SINSABAUGH, 2010).

A atividade das enzimas oxidativas em solos são geralmente muito dinâmicas, o que sugere que estas enzimas são menos estáveis que a maioria das hidrolases (SINSABAUGH, 2010). As enzimas oxidativas estão tão sujeitas a reações não-competitivas e ataques proteolíticos quanto as hidrolases, mas ainda estão expostas a outros fatores, como os próprios produtos de sua reação (GIANFREDA; BOLLAG, 1994; DURAN et al., 2002), e os agentes quelantes que podem puxar átomos de Fe e Cu dos sítios ativos (BOYD; MORTLAND, 1990; HUANG, 1990; KEUM; LI, 2004).

2.8. Atividade microbiana e enzimática como biondicadores da qualidade do solo.

A atividade microbiana é de grande importância para processos biológicos e bioquímicos do solo porque influencia diretamente a transformação de nutrientes e compostos orgânicos. Também é quantitativamente e qualitativamente associada com a presença de enzimas extracelulares hidrolíticas que são importantes no processo de decomposição e mineralização da matéria orgânica (NAKAS et al., 1987; MARTENS et al., 1992).

Os microrganismos produzem enzimas extracelulares que degradam substâncias de massa molecular elevada formando compostos mais simples. As fontes de enzimas para os solos podem vir, além das células metabolicamente ativas, da morte dos microrganismos com consequente lise celular dos vegetais e da fauna (BURNS, 1986).

As propriedades biológicas e bioquímicas do solo, tais como: a atividade enzimática, a taxa de respiração, matéria orgânica e a biomassa microbiana são indicadores sensíveis que podem ser utilizados no monitoramento de alterações ambientais decorrentes do uso agrícola, sendo ferramentas para orientar o planejamento e a avaliação das práticas de manejo utilizadas (TURCO et al., 1994).

A atividade das enzimas α e β -glicosidase estão relacionadas positivamente aos valores de carbono orgânico total, biomassa microbiana e matéria orgânica do solo (EIVAZI; TABATABAI, 1988). Este fato explica a maior atividade dessas enzimas em solos florestais. Solos com diferentes tipos de manejo apresentam perda de matéria orgânica, e consequentemente baixa atividade de enzimas como a β -glicosidase (SILVA et al., 2012).

Altos valores de atividade da enzima fosfatase ácida em solos de Cerrado, é um sinal da carência de fósforo no solo (DICK, 1994), quando comparadas as classes de uso do solo, é comum encontrar maiores valores de atividade dessa enzima em solos de pasto, enquanto menores valores são encontrados em solos florestais (SILVA et al., 2012).

A atividade de enzimas oxidoredutases, tais como fenoxidase e peroxidase, sinalizam stresse oxidativo do solo, por esse motivo solos com altos teores de ferro e alumínio apresentam atividades elevadas dessas enzimas (SINSABAUGH, 2010), por esse motivo solos florestais na maior parte das vezes apresentam baixa atividade dessas enzimas, enquanto solos de Cerrado tendem a apresentar valores elevados.

As enzimas extracelulares podem ser estabilizadas nos colóides do solo e manter sua atividade durante longos períodos de tempo (BURNS, 1982; NANNIPIERI et al., 1996). Busto e Perez-Mateos (1995) extraíram os componentes húmicos do solo e mostraram que este extrato apresentava em torno de 50% da atividade total de β -glicosidase do solo. Outros autores mostraram que várias enzimas extracelulares podem ser complexadas e estabilizadas pela matéria orgânica e pela argila do solo. Esta imobilização das enzimas nos colóides do solo podem protegê-las da degradação pelas enzimas proteolíticas (GIANFREDA et al., 1995; RAO et al., 2000; BUSTO; PEREZ-MATEOS, 2000; KNIGHT; DICK, 2004).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral:

Compreender a influência da sazonalidade e das diferentes classes de uso do solo sobre a atividade enzimática em solos do Cerrado goiano.

3.2. Objetivos Específicos:

- Monitorar a atividade de hidrolases e oxidorreduções durante os períodos de seca e chuva em diferentes classes de uso do solo.
- Identificar a influência da sazonalidade sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo e, conseqüentemente, sobre a atividade de hidrolases e oxidorreduções.
- Correlacionar a atividade das enzimas α e β glicosidase, fosfatase ácida, fenoloxidase e peroxidase com atributos químicos, físicos e biológicos relacionados à fertilidade de um solo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo e amostragem

O estudo foi realizado na Trilha Interpretativa de Educação Ambiental “Trilha do Tatu”, localizada na Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas (UnUCET) - UEG, em Anápolis - GO (Fig. 13). Um delineamento experimental foi realizado antes da coleta das amostras de solos, com o objetivo de determinar os três melhores pontos de coleta dentro de cada classe de uso do solo. Foram coletadas amostras nas seguintes classes de uso: Cerrado “*sensu stricto*” (Cerrado “*ss*”), Mata Mesófila e pasto (Fig. 12).

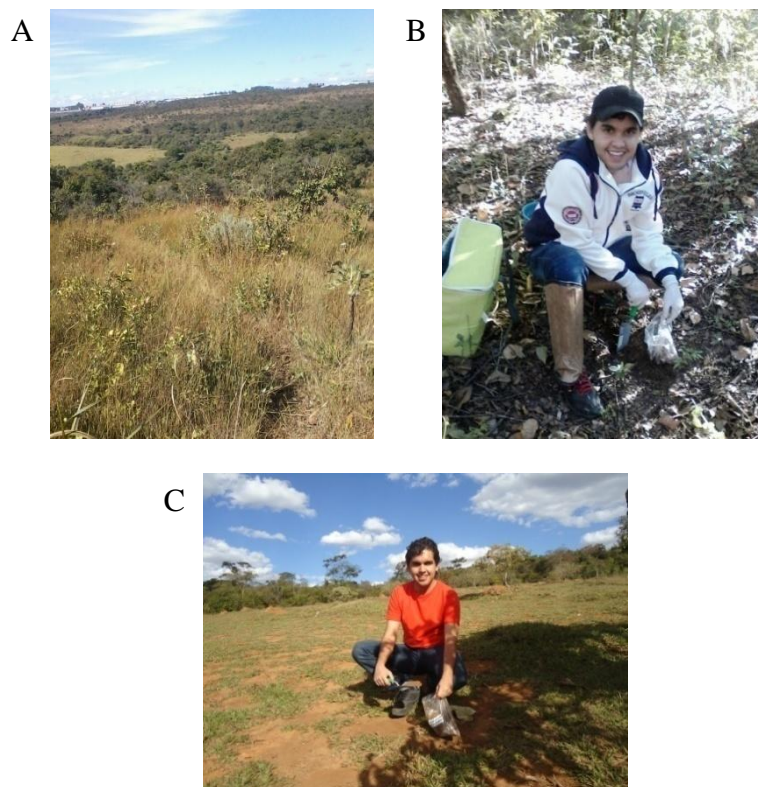


Figura 12. Áreas de coleta das amostras de solos. A) Cerrado “*ss*”, B) Mata Mesófila, C) pasto.

As amostras foram obtidas durante os períodos de seca e chuva, entre os meses de Novembro de 2012 e Julho de 2013, na profundidade de 0-15 cm. As amostras foram peneiradas (2mm) e estocada na temperatura de 4 °C. O clima da área de estudo é o tropical úmido, com dois períodos bem definidos, período seco e chuvoso. Os latossolos vermelhos são predominantes na região de amostragem.

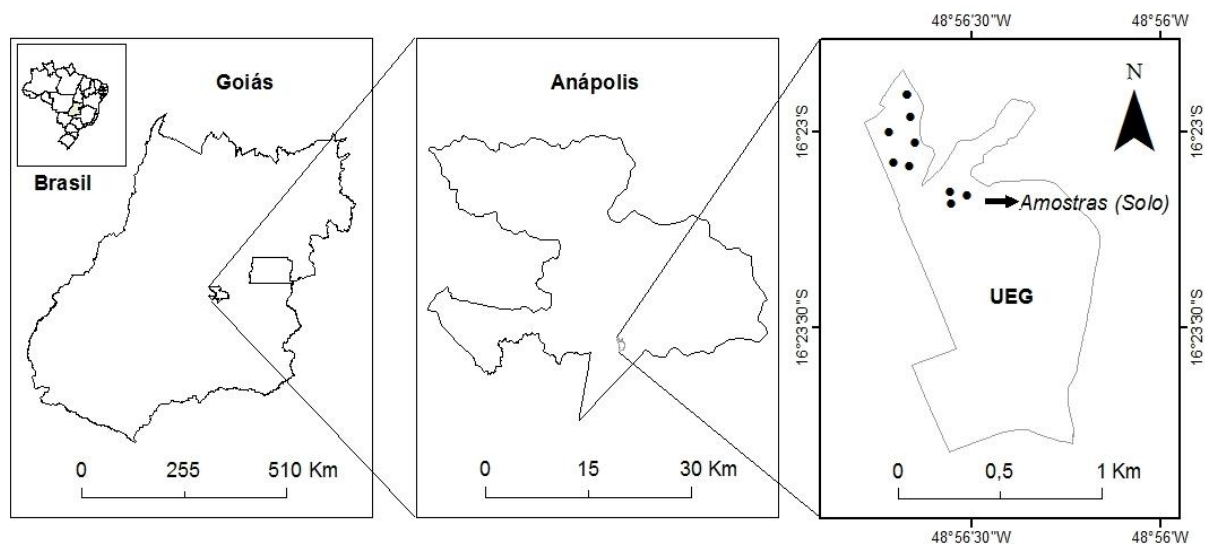


Figura 13. Mapa de localização da área de estudo. Em destaque o município de Anápolis e o Campus da Universidade Estadual de Goiás. Os pontos (●) representam os locais de coleta das amostras de solos.

4.2. Procedimentos e análises de banco de dados

A fim de melhor caracterizar a área de estudo e relacionar os parâmetros físicos com as atividades enzimáticas encontradas no solo, foram utilizadas nesse estudo séries temporais de imagens de índice de vegetação e precipitação providas por satélites. Os dados espaciais foram obtidos antes da realização da coleta de solos, e analisados para determinar os melhores pontos de amostragem dentro de cada classe de uso.

O Índice de Vegetação empregado foi o Índice de Vegetação Avançada (EVI), obtido a partir de pixels puros pelo sensor do satélite Terra- MODIS (produto MOD13 Q1, coleção 5), ao longo dos anos de 2011 e 2012, com resolução espacial de 250 m. Este conjunto de dados, fornecido originalmente pela NASA (<http://reverb.echo.nasa.gov/reverb/>), foi adquirido pelo INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, <http://www.inpe.br>), mais especificamente no projeto LAF (<https://www.dsr.inpe.br/laf/series/index.php>), onde as séries temporais são filtradas e interpoladas.

Os dados de precipitação (mm por mês) específicos da área de estudo referem-se ao produto 3B43/coleção 6 do satélite TRMM (Tropical Rainfall Measuring Mission), nesse caso, obtidos pela visualização online TRMM e Análise de Sistemas (TOVAS, http://gdata1.sci.gsfc.nasa.gov/daac-bin/G3/gui.cgi?instance_id=TRMM_Monthly).

Dados vetoriais, em geral, como os limites políticos e o mapa de cobertura do solo e

uso da terra (dados de 2006) foram fornecidos pelo Sistema Estadual de Estatística e Informações Geográficas de Goiás (SIEG, <http://www.sieg.go.gov.br>). O mapa de cobertura do solo e uso da terra foi produzido com a classificação visual e automática, utilizando imagens de satélite do Landsat 5-TM (dados de 2002), revistos em 2006.

4.3. Propriedades físico-químicas do solo

Foram determinadas as seguintes propriedades físico-químicas das amostras de solos: pH, capacidade de troca catiônica, matéria orgânica, carbono e nitrogênio total, saturação por base e alumínio, teor de nutrientes e textura, usando métodos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 1997). A cor do solo foi determinada pelo sistema de Munsell (MUNSELL, 2000).

4.4. Carbono da Biomassa Microbiana

O carbono da biomassa microbiana foi determinado pela metodologia de irradiação-incubação proposta por Ferreira et al. (1999). As amostras foram peneiradas (2 mm), mantidas com a umidade do momento da coleta e colocadas sob refrigeração ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) até o momento de suas análises. Subamostras (40 g de solo) em triplicata foram colocadas em placas de Petri e submetidas aos seguintes tratamentos: (a) solo sem irradiação (controle) e (b) solo irradiado com microondas durante 2 min. Utilizou-se o forno de microondas com tensão de alimentação 120 V (60 Hz), frequência de microondas de 2.450 MHz e concentração de energia 1,35 KW.

Em seguida, foi feita a inoculação de 2 g de solo nas amostras irradiadas. Cada amostra foi incubada em frascos de 1 L hermeticamente fechados, providos de recipientes com 10 mL de NaOH 1 mol L⁻¹ para captação do CO₂ liberado. Após a incubação, os recipientes com NaOH foram retirados e receberam 5 mL de BaCl₂ 1 mol L⁻¹ e algumas gotas de fenolftaleína para titulação com HCl 1 mol L⁻¹. A liberação do CO₂ foi calculada pela fórmula (STOTZKY, 1965):

$$\text{mg CO}_2 = (B - V) \cdot M \cdot E$$

Em que B = volume de HCl necessário para titular o excedente de NaOH da prova em branco; V = volume de HCl necessário para titular o excedente de NaOH da amostra; M = molaridade do HCl 1 mol L⁻¹; E = peso equivalente do carbono.

Os valores do carbono presentes na biomassa microbiana foram calculados pela equação descrita a seguir:

$$C_{mic} = (CFI - CNFI) / KC = \mu\text{g g}^{-1} \text{ de C no solo}$$

Em que C_{mic} = carbono presente na biomassa microbiana do solo; CFI = carbono presente na amostra irradiada; CNFI = carbono presente na amostra não irradiada; KC = fator de conversão de 0,33 (SPARLING; WEST, 1988).

4.5. Ensaio enzimático

4.5.1. Hidrolases

A atividade das enzimas α -glicosidase, β -glicosidase e fosfatase ácida foram determinadas após a incubação dos solos com os substratos *p*-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo, *p*-nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo e *p*-nitrofenilfosfato, respectivamente (Sigma-Aldrich, EUA, <http://www.sigmaaldrich.com/>). O monitoramento do *p*-nitrofenol formado foi realizado a 400 nm, e as atividades enzimáticas foram expressas em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

A mistura da reação contendo 0,8 mL dos substratos específicos 1.2 mM, em tampão acetato de sódio 100 mM (pH 5.0) e 0,05 g das amostras de solos, foi incubada a 40 °C durante 60 min. A reação foi interrompida pela adição de 0,5 mL de carbonato de sódio 0.5 M, de acordo com métodos propostos por Baldrian et al. (2005). Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Utilizou-se uma curva padrão preparada com as concentrações conhecidas de *p*-nitrofenol (0, 1, 2, 3, 4 e 5 mL) para determinação da quantidade liberada das amostras. Uma unidade de enzima foi definida como a quantidade mínima capaz de formar 1 μmol de *p*-nitrofenol, por grama de solo (massa seca), por hora de reação, sob as condições do ensaio.

4.5.2. Oxidorredutases

A atividade das enzimas fenoxidase e peroxidase foram determinadas após a incubação dos solos com o substrato L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) (Sigma-Aldrich, EUA, <http://www.sigmaaldrich.com/>). O monitoramento do 3-dihidroindol-5,6-quinona-2-carboxilato de metila (DIQC) formado foi realizado a 460 nm, e as atividades enzimáticas foram expressas em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

A mistura da reação contendo 1 mL do substrato específico na concentração 5 mM, em tampão acetato de sódio 100 mM (pH 5.0) e 0,05 g das amostras de solos, foi incubada em temperatura ambiente durante 60 min. Nos ensaios da enzima peroxidase, foi adicionado ainda 0,3 mL de peróxido de hidrogênio 3% (v/v). Todos os ensaios foram realizados em triplicata. A atividade enzimática foi calculada com base em um coeficiente de extinção micromolar de 1,29/ μmol , determinado experimentalmente (SINSABAUGH et al., 1999). Todos os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Uma unidade de enzima foi definida como a quantidade de enzima necessária para formar 1 μmol de DIQC, por grama de solo (massa seca), por hora de reação, utilizando o coeficiente de extinção micromolar de 1,29, sob as condições do ensaio.

4.6. Análises estatísticas

A atividade enzimática foi analisada por uma ANOVA Three-way com um arranjo fatorial de 3 x 2 x 3 (pontos, períodos do ano, classes de uso do solo). O teste de Tukey (análise *post-hoc*) foi utilizado para comparação de médias ($P < 0,05$). A ANOVA Three-way foi realizada após a verificação da normalidade (teste de Shapiro-Wilk). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa científico STATISTICA 7.1 (StatSoft, 2005).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Precipitação sazonal e índice de vegetação da área de estudo

Os dados de precipitação da área de estudo mostram a presença de dois períodos bem definidos no bioma Cerrado: seco e chuvoso. O período chuvoso ocorre de outubro a março, com valores de precipitação superiores a 372 mm em janeiro de 2012, no período seco foram observados valores próximos a zero nos meses de julho e agosto dos anos analisados (Fig. 14A).

Existe uma forte resposta da precipitação sobre a vegetação do Cerrado. As três curvas de EVI mostram um padrão que segue as variações de precipitação no Cerrado. Os valores de EVI também revelaram diferenças na cobertura do solo, mostrando valores mais elevados na Mata Mesófila seguido pelo Cerrado "ss" e pasto (cultivado) (Fig. 14B).

Com base nas análises de EVI foi possível descrever o comportamento fotossintético das classes de uso do solo estudadas, onde as áreas de Mata Mesófila, mesmo no período de seca, mantêm um valor de EVI mais alto, traduzido em maior proteção para o solo, maior quantidade de matéria orgânica e maior evapotranspiração. Os valores de EVI para Cerrado "ss" (mais ralo) e pasto (cultivado) ficaram muito próximos no período de seca, enquanto na época de chuva o Cerrado "ss" reagiu mais rápido por se tratar de uma área natural, com menos solo exposto (Fig. 14B).

5.2. Uso do solo

O mapa de uso do solo mostra a predominância de pasto (nativos e cultivados) no estado de Goiás, seguida por áreas de agricultura e Cerrado nativo. Especificamente na área de estudo, áreas de Cerrado e Mata Mesófila são predominantes, o pasto cultivado está inserida na área de Mata Mesófila (Fig. 15).

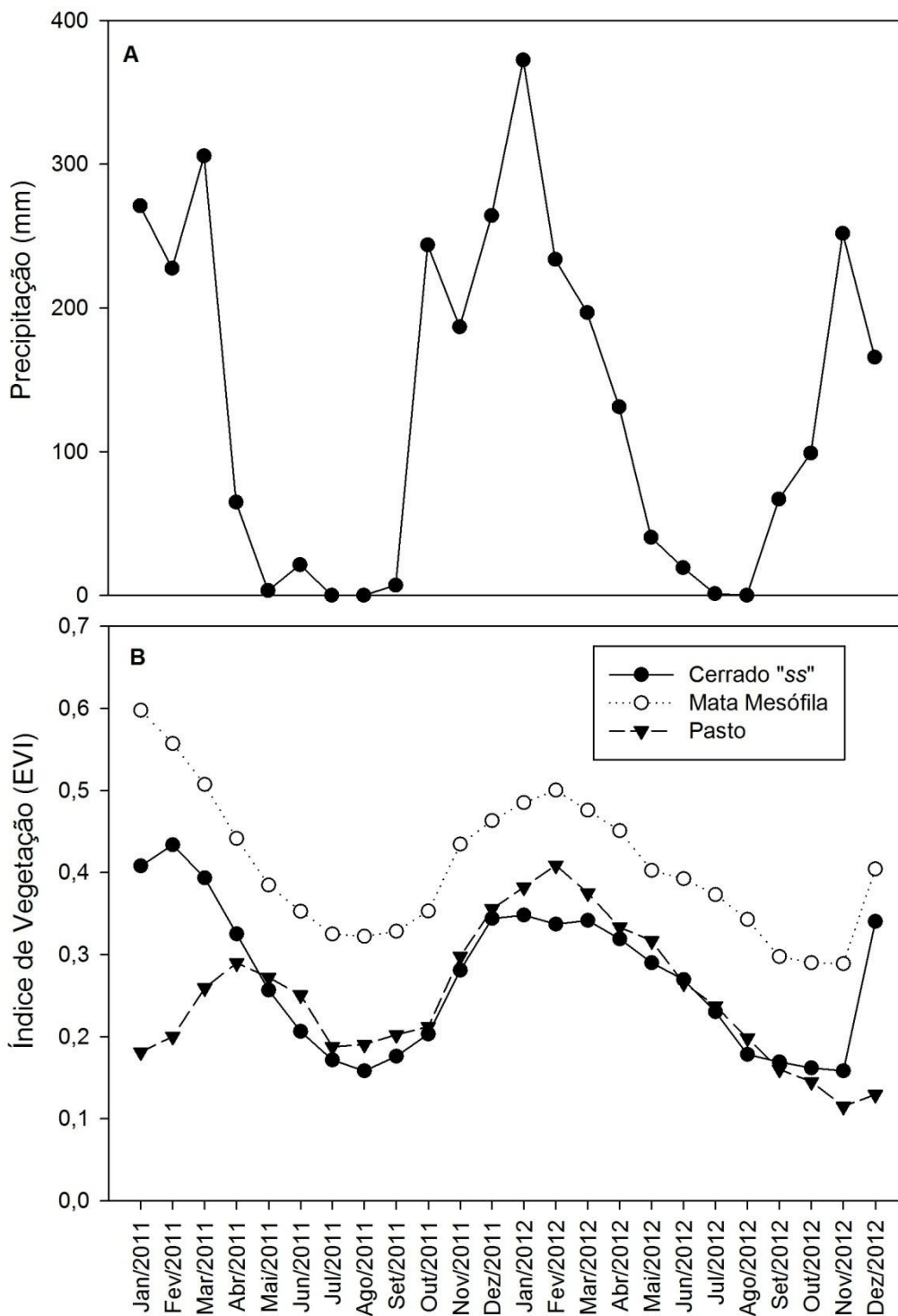


Figura 14. Precipitação (A) e índice de vegetação (B) das diferentes classes de uso do solo presentes na área de estudo durante os anos de 2011 e 2012.

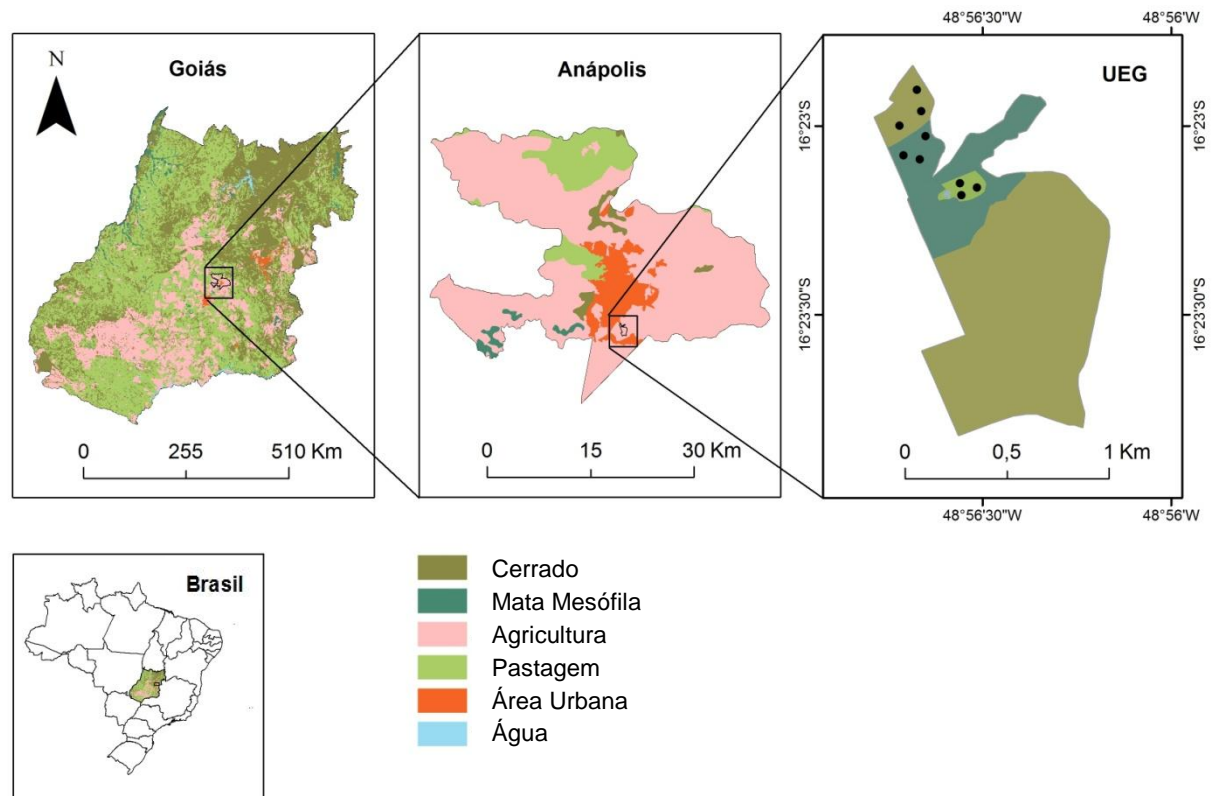


Figura 15. Mapa de uso do solo na área de estudo, com ênfase nas áreas de Cerrado, mata mesófila e pasto presentes nos locais de amostragem.

5.3. Propriedades físico-químicas do solo

As características físico-químicas das amostras coletadas durante o ano nas diferentes classes de uso do solo estão representadas na tabela 1. As alterações nas propriedades físico-químicas possibilitam variação na comunidade microbiana do solo, podendo interferir na produção e atividade das enzimas.

É possível identificar uma clara diferença entre os tipos de solo coletados nas áreas de Cerrado “*ss*” e Mata Mesófila. Na primeira classe de uso, é perceptível que os principais cátions, como Ca^{2+} e Mg^{2+} estão em quantidades reduzidas, o que reflete diretamente na capacidade de troca para o solo. Outros macronutrientes em concentrações reduzidas são o potássio e o fósforo, em relação ao que ocorre com o solo da Mata Mesófila.

As amostras de solo coletadas no pasto podem ser comparados com as da mata mesófila, uma vez que foi obtida pelo desmatamento dessa área. A área de perturbação humana pode ter causado as discrepâncias nos níveis de cálcio e, especialmente, potássio. Assim como nos solos de mata mesófila, as amostras do pasto não apresentaram saturação por

alumínio, e mantiveram seu pH semelhante ao da área de cobertura vegetal nativa.

A cor dos solos de Cerrado “ss” variaram do marrom avermelhado ao vermelho alaranjado durante o ano, indicando a presença de argila, ferro e alumínio. As cores mais escuras apresentadas pelos solos de Mata Mesófila, variando de marrom ao preto avermelhado, são resultantes do alto teor de matéria orgânica presente nessa classe de uso do solo. Os solos de pasto apresentaram cores que vão do vermelho ao marrom avermelhado, indicando a perda de matéria orgânica e aumento na quantidade de argila, devido à ação antropogênica.

Tabela 1. Propriedades físico-químicas das amostras de solos coletados em diferentes classes de uso durante o período de chuva e seca.

Propriedades físico-químicas do solo	Cerrado “ss”		Mata Mesófila		Pasto	
	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca
pH (CaCl ₂) Un.	4,0 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,9 ± 0,3	4,9 ± 0,1	4,7 ± 0,4	4,7 ± 0,1
Umidade %	7,0 ± 2,8	3,0 ± 2,8	23 ± 1,4	14,5 ± 9,1	6,5 ± 0,7	7,5 ± 6,3
Ca mEq/100cm ³	0,8 ± 0,3	0,6 ± 0,1	8,6 ± 2,7	5,2 ± 2,2	3,3 ± 3	2,9 ± 0,6
Mg mEq/100cm ³	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0	2,9 ± 2	1,7 ± 2	1,1 ± 0,5	1,4 ± 0,1
CTC mEq/100cm ³	7,4 ± 0,6	6,7 ± 0,7	17 ± 2,2	12 ± 3	9,6 ± 2,4	9,4 ± 1,7
P (Melich) mg/dm ³	2 ± 0	1,5 ± 0,7	8 ± 1	5,5 ± 6	1,5 ± 0,7	3 ± 1,4
K mg/dm ³	72 ± 11	90 ± 8	134 ± 3	166 ± 48	36 ± 23	80 ± 11
Matéria orgânica %	4,8 ± 1,3	4,6 ± 0,9	11,7 ± 4	7,7 ± 2,7	4,1 ± 0,9	3,1 ± 0,6
C. Org. Total %	2,8 ± 0,7	2,7 ± 0,5	6,5 ± 2,12	4,3 ± 1,6	2,5 ± 0,6	1,8 ± 0,3
N Total %	0,2 ± 0	0,2 ± 0	0,6 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0	0,1 ± 0
Saturação Al %	32 ± 15	31 ± 6	0	0	5 ± 6	0
Saturação base %	17 ± 5	16 ± 1	66 ± 18	59 ± 11,3	44 ± 26	48 ± 0,7
Argila %	47 ± 15	45 ± 4,2	35 ± 28	33 ± 8,4	54 ± 5,7	55 ± 3,5
Cor	10YR 6/6	10YR 5/4	10YR 2/1	10YR 5/6	10YR 5/8	10YR 4/4

Os solos coletados em período de seca apresentaram redução na quantidade de cálcio, carbono orgânico total, e capacidade de troca catiônica em todas as classes de uso do solo analisadas. Tais fatores estão diretamente relacionados à fertilidade do solo.

5.4. Carbono da Biomassa Microbiana

Os valores de Carbono da Biomassa Microbiana foram superiores em solos de Mata Mesófila, seguidos por Cerrado “ss” e pasto (Tabela 2). Maiores valores de carbono da biomassa microbiana em solos de Cerrado nativo já haviam sido relatados por Marchiori Júnior e Melo (1999) e Silva et al. (2012).

Tabela 2. Valores de Carbono da Biomassa Microbiana durante o período de chuva e seca, em diferentes classes de uso do solo ($\mu\text{g g}^{-1}$ de C no solo).

Cerrado “ss”		Mata Mesófila		Pasto	
Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca
481 ± 127	453 ± 102	916 ± 278	593 ± 242	425 ± 187	298 ± 113

A maior diversidade de espécies vegetais em áreas de Cerrado nativo preservado contribui para a deposição de substratos orgânicos oxidáveis com composição variada de serrapilheira, favorecendo uma maior diversidade de compostos orgânicos depositados na rizosfera, esse fato contribui para a sobrevivência e o crescimento dos diferentes grupos de microrganismos do solo. Assim, as condições distintas do solo sob vegetação de cerrado nativo, juntamente com a ausência de perturbações decorrentes de atividade antrópica, tornam possível a existência de maiores teores de biomassa microbiana, indicando o maior equilíbrio da microbiota do solo nesse ecossistema (D'ANDRÉA et al., 2002).

Em todas as classes de uso do solo analisadas, os maiores valores de carbono da biomassa microbiana foram encontrados no período de chuva. Este fato acontece devido ao maior teor de umidade e, conseqüentemente, crescimento microbiano durante esse período do

ano. Aragão et al. (2012) também demonstraram queda nos valores de carbono da biomassa microbiana durante esse período do ano.

Foi observada correlação positiva altamente significativa entre os valores de carbono da biomassa microbiana e os teores de carbono orgânico total e umidade do solo. Perez et al. (2004) também observaram alta correlação entre o carbono da biomassa microbiana e o carbono orgânico total do solo. A influência significativa do teor de umidade no aumento do carbono da biomassa microbiana também foi constatada por Giácomo et al. (2005).

5.5. α e β -glicosidase

Diferenças significativas na atividade da enzima α -glicosidase foram observadas durante o período de chuva entre os solos de Mata Mesófila e as outras classes de uso analisadas. A atividade da enzima em solos de Cerrado “ss” e pasto não diferiram significativamente em nenhum dos períodos observados, e apresentaram padrão similar de atividade durante o ano (Fig. 16). Esse fato é explicado pela similaridade das propriedades físico-químicas e microbiológicas entre as duas áreas.

A atividade da α -glicosidase foi maior no período chuvoso em todas as classes de uso analisadas, entretanto, a influência da sazonalidade foi significativa apenas em solos de Mata Mesófila e pasto, ambas áreas apresentaram quedas acentuadas no período de seca.

A atividade da enzima β -glicosidase ao longo do ano mostrou-se estatisticamente diferente entre as classes de uso do solo analisadas (Fig. 17). Assim como ocorreu com a enzima α -glicosidase, os maiores valores de atividade enzimática foram encontrada em solos de mata mesófila, seguido por solos de Cerrado “ss” e pasto. Solos coletados no período chuvoso apresentaram maior atividade enzimática. A influência exercida pelos períodos do ano foi significativa nos solos de Cerrado “ss” e Mata Mesófila (Fig. 17).

Os pontos de amostragem dentro de uma mesma classe de uso do solo, não exerceram influência significativa para nenhuma das enzimas mencionadas.

As variações na atividade da α e β -glicosidase no período seco podem ser explicada pela influência das condições climáticas sobre o metabolismo dos organismos vivos, os produtores da enzima presente no solo. Evangelista et al. (2012), em estudos realizado em solos de clima tropical no estado de Goiás, também observaram variação sazonal semelhante na atividade da enzima β -glicosidase.

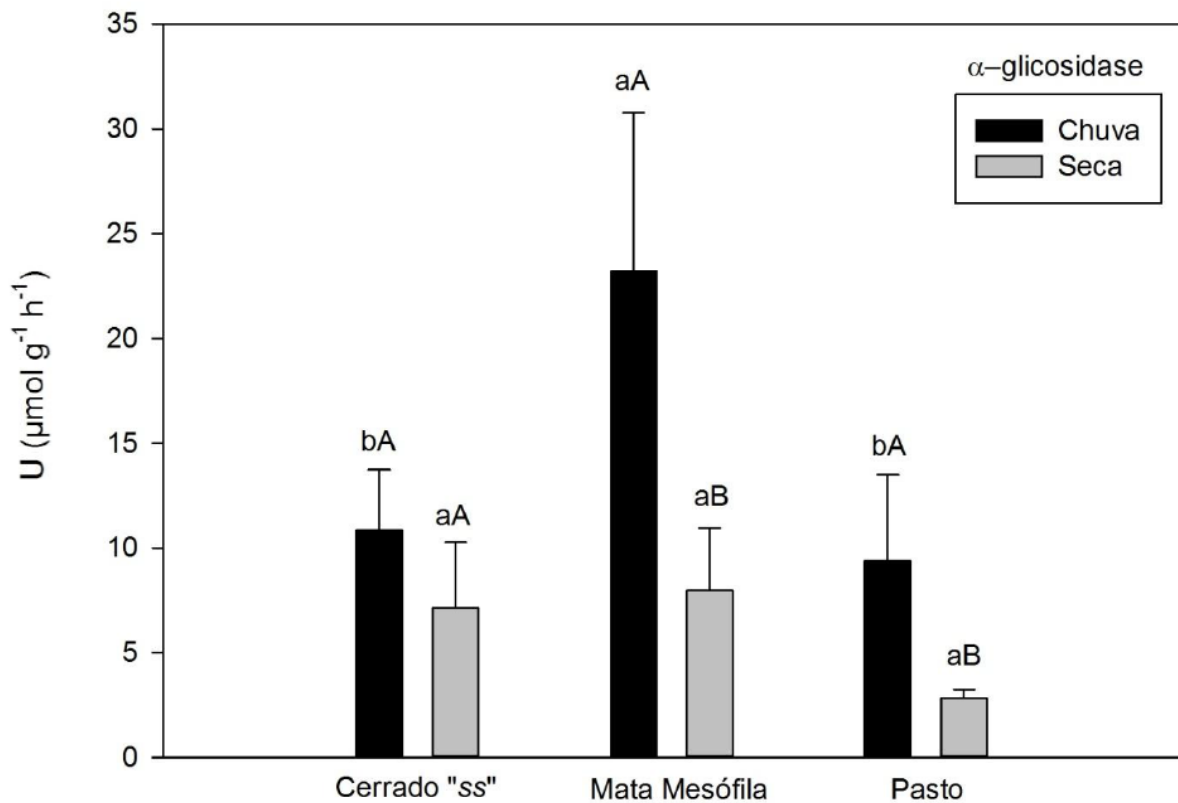


Figura 16. Atividade anual da enzima α -glicosidase em diferentes classes de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre as classes de uso do solo, enquanto diferentes letras maiúsculas representam variações significativas entre os períodos do ano ($P < 0,05$; ANOVA Three-way seguida pelo teste de Tukey *post-hoc*).

Pode-se observar por meio da análise de correlação, que quanto maior o teor de carbono orgânico total e da biomassa microbiana no solo, maiores são os valores de atividade de ambas enzimas (Apêndice 2). Silva et al. (2012), em pesquisa realizada com solos do Vale do Paraíba do Sul também observaram correlação significativa entre esses fatores.

A diferença na atividade da α e β -glicosidase entre as classes de uso do solo e períodos do ano analisados pode ser explicada pelo teor de matéria orgânica. Vários autores também encontraram uma correlação positiva entre esses fatores (EIVAZI; TABATABAI, 1988; WANG; LU, 2006). A adição de matéria orgânica exerce influência na produção de hidrolases relacionadas ao ciclo de nutrientes por microrganismos (MOSCATELLI et al., 2012).

A matéria orgânica também protege e mantém as enzimas do solo em suas formas ativas pela interação entre as substâncias húmicas e as moléculas da enzima (DENG; TABATABAI, 1997). O elevado teor de matéria orgânica apresentado em solos de Mata Mesófila explicam a maior atividade encontrada nessa área, independentemente do período.

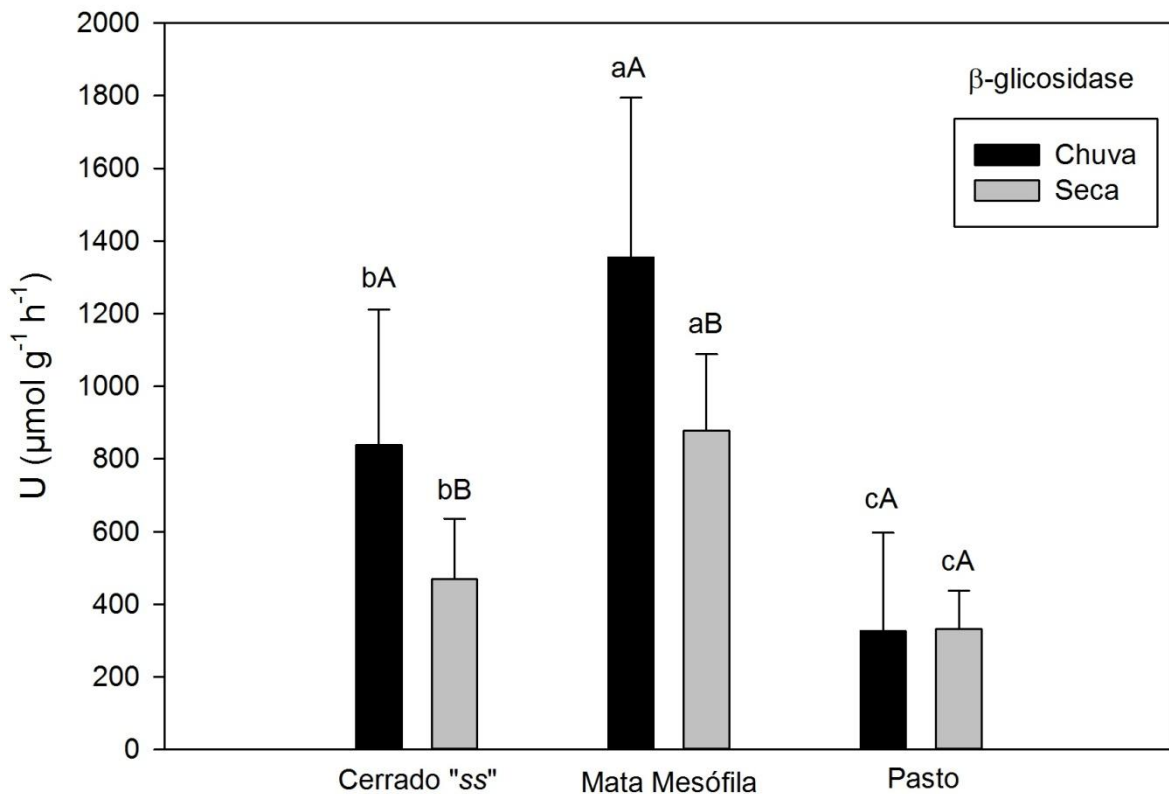


Figura 17. Atividade anual da enzima β -glicosidase em diferentes classes de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre as classes de uso do solo, enquanto diferentes letras maiúsculas representam variações significativas entre os períodos do ano ($P < 0,05$; ANOVA Three-way seguida pelo teste de Tukey *post-hoc*).

Houve uma forte correlação negativa entre o teor de argila no solo e a atividade enzimática. A imobilização de enzimas por adsorção em solos argilosos pode afetar os sítios catalíticos e diminuir a atividade da enzima como consequência (YAN et al, 2010; RAO et al, 2000).

Macronutrientes apresentaram correlação positiva com a atividade da α e β -glicosidase. Muitos íons bivalentes, tais como cálcio e magnésio, desempenham papéis importantes na catálise enzimática, atuando como co-fatores ou ativadores (MEHRANI; STOREY, 1993; JANDA et al, 1997; NAKKAHARAT; HALTRICH, 2006; HAN; CHEN, 2008). Neste trabalho observou-se que a presença de cálcio e magnésio concentrou-se nos solos coletados na Mata Mesófila, durante o período de chuva, e coincidiu com as maiores atividades dessas hidrolases.

5.6. Fosfatase ácida

A atividade da enzima fosfatase ácida em solos de diferentes classes de uso diferiu significativamente apenas no período seco. Considerando o efeito do período chuvoso ou seco, diferenças significativas foram observadas em solos de Mata Mesófila, com maiores valores no período seco, e em solos de pasto, com atividade mais elevada de fosfatase no período chuvoso (Fig. 18).

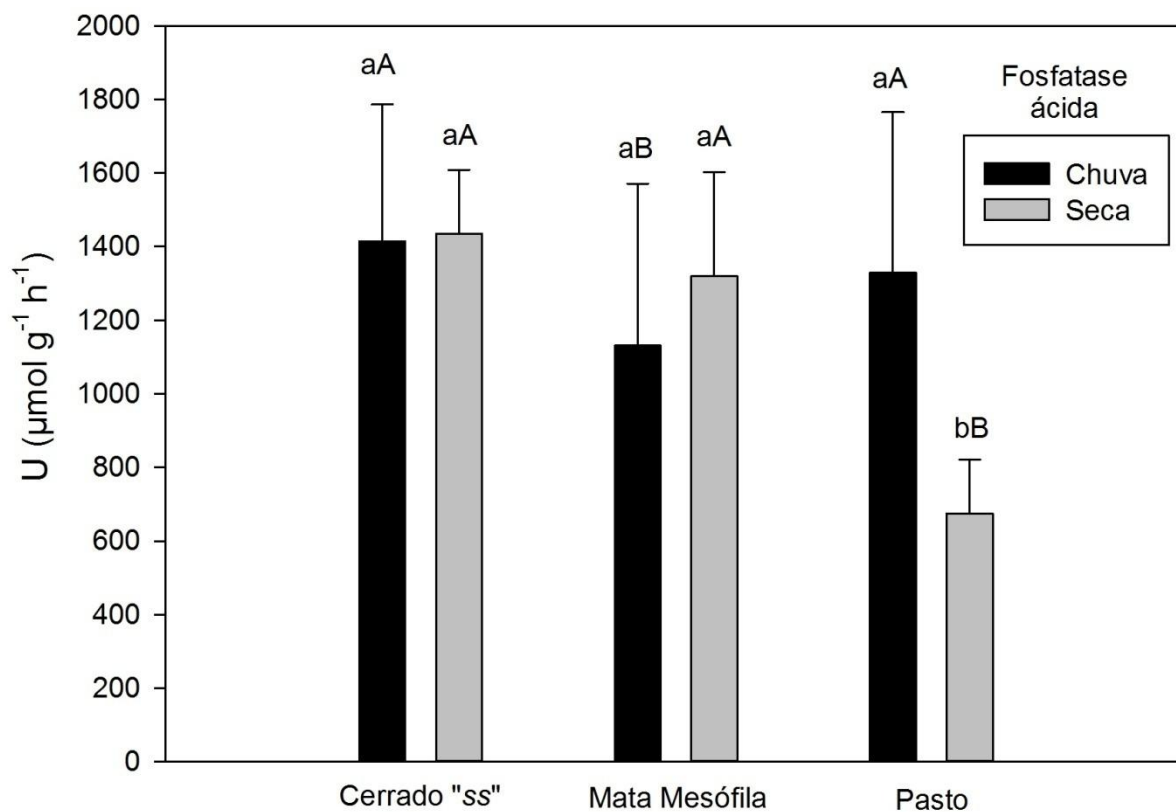


Figura 18. Atividade anual da enzima fosfatase ácida em diferentes classes de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre as classes de uso do solo, enquanto diferentes letras maiúsculas representam variações significativas entre os períodos do ano ($P < 0,05$; ANOVA Three-way seguida pelo teste de Tukey *post-hoc*).

O aumento significativo na atividade de fosfatase ácida em solos de Mata Mesófila no período seco são semelhantes aos obtidos por Evangelista et al. (2012) em diferentes solos presentes no estado de Goiás. Criquet et al. (2004) mostraram uma correlação negativa entre a temperatura do local de estudo e a atividade enzimática, indicando uma variação sazonal na produção da enzima fosfatase ácida, especialmente por fungos, que são mais comumente encontrados nesse tipo de solo durante o período de frio (CRIQUET et al., 2004). Harrison e Perce (1979) observaram um aumento sazonal na atividade da fosfatase ácida em solos

durante os períodos de seca e frio.

Criquet et al. (2004), considerando a temperatura e precipitação mensal média de uma grande área de amostragem, encontraram correlação negativa entre esses fatores e a atividade enzimática. Esta constatação também é suportada por Kramer e Green (2000) e Baldrian et al. (2013).

A produção de fosfatases é rigorosamente controlada pela demanda biológica, então a atividade da fosfatase tende a ser menor quando o fosfato é mais abundante (SPEIR; ROSS, 1978; ALLISON et al, 2007). Nesse estudo, observou-se uma fraca correlação negativa entre os níveis de fósforo e atividade enzimática durante o ano em todos as classes de uso do solo analisadas.

Dick (1994) sugere que a redução dos níveis de atividade da fosfatase ácida estão em conformidade com o aumento de fósforo no solo. A alta atividade da fosfatase ácida em solos de Cerrado "ss" e Pastagem na estação chuvosa em comparação com solos de Mata Mesófila, mostram a importância desse fator na regulação da atividade desta enzima.

A disponibilidade de nutrientes (Ca, Mg, K) não apresentou correlação com a atividade da enzima. No entanto, acredita-se que existe uma relação inversa entre a atividade desta enzima, e a disponibilidade desses nutrientes (SINSABAUGH et al, 1993). A matéria orgânica e o pH mostraram fraca correlação com a atividade da enzima, e estão de acordo com o descrito por Deng e Tabatabai (1997). Assim como para as enzimas α e β -glicosidase, o teor de argila apresentou correlação negativa.

5.7. Fenoloxidase

Os maiores valores de atividade da enzima fenoloxidase durante o período de chuva foram encontrados em solos de Mata Mesófila, seguido por solos de pasto e Cerrado "ss". Durante o período de seca, os maiores valores foram encontrados em solos de Cerrado "ss", seguido por solos de Mata Mesófila e pasto, que apresentaram valores semelhantes. Durante o período de seca a vegetação rasteira predominante no Cerrado "ss" expõe mais o solo para a perda de água em relação ao que ocorre com a Mata Mesófila, que possui cobertura vegetal mais densa. Isto pode ter provocado uma concentração da enzima no solo de Cerrado "ss", enquanto que na Mata Mesófila a menor variação na umidade do solo não causou o mesmo efeito (Fig. 19).

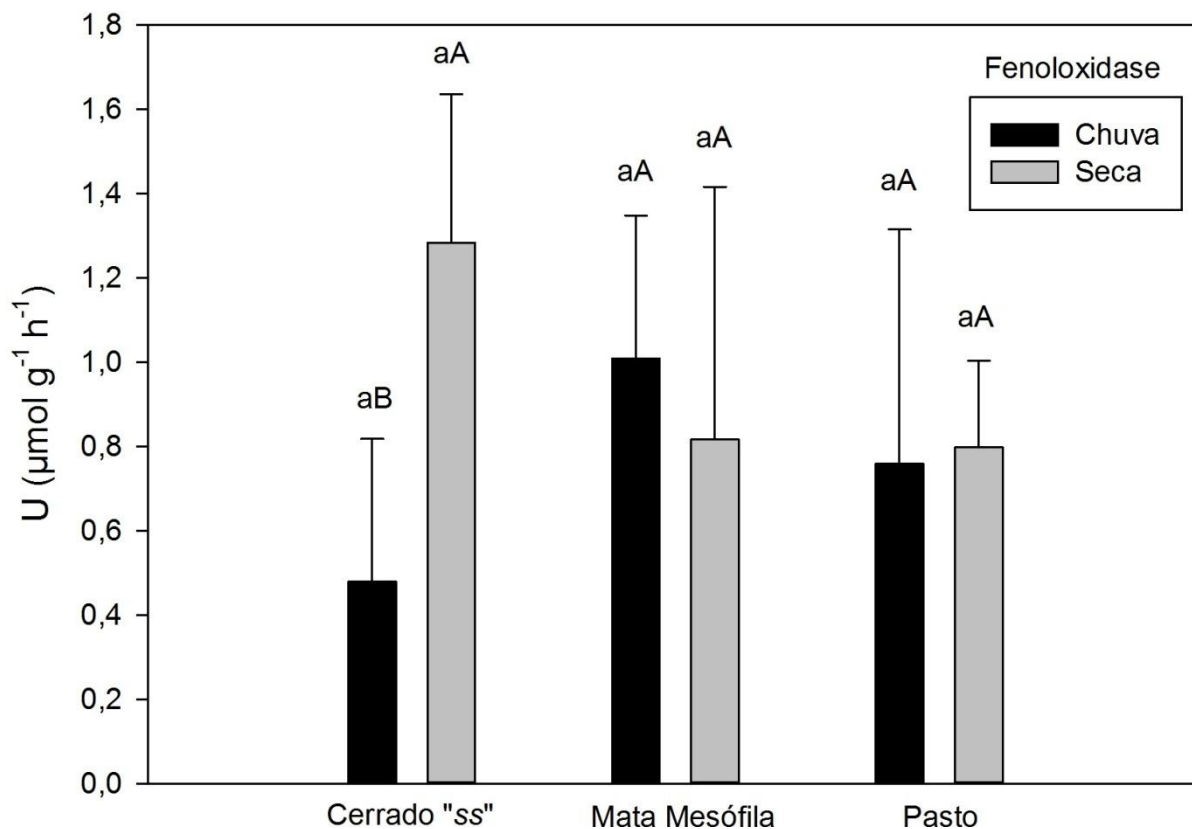


Figura 19. Atividade anual da enzima fenoloxidase em diferentes classes de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre as classes de uso do solo, enquanto diferentes letras maiúsculas representam variações significativas e entre os períodos do ano ($P < 0,05$; ANOVA Three-way seguida pelo teste de Tukey *post-hoc*).

A atividade da fenoloxidase não apresentou correlação significativa com nenhum dos fatores analisados nesse estudo, entretanto, os teores de potássio e nitrogênio parecem exercer influência positiva sobre a atividade da enzima. Kong et al. (2000) e Gao et al. (2009) também observaram correlação entre os teores de potássio e a atividade de fenoloxidasas. Sinsabaugh (2010) aponta a disponibilidade de nitrogênio como um dos fatores que influenciam a atividade da enzima.

5.8. Peroxidase

As diferentes classes de uso do solo influenciaram significativamente a atividade da enzima peroxidase. Áreas de Cerrado “ss” apresentaram os maiores valores de atividade da enzima durante todo o ano, diferindo estatisticamente das áreas de Mata Mesófila e pasto, que por sua vez não diferiram significativamente entre si (Fig. 20).

A sazonalidade não influenciou estatisticamente a atividade da enzima peroxidase, que apresentou baixa variação entre os períodos de seca e chuva em todas as classes de uso do solo. Boerner et al. (2005) e Kellner et al. (2008) também não encontraram nenhuma influência significativa sobre a atividade da enzima causada pela variação sazonal.

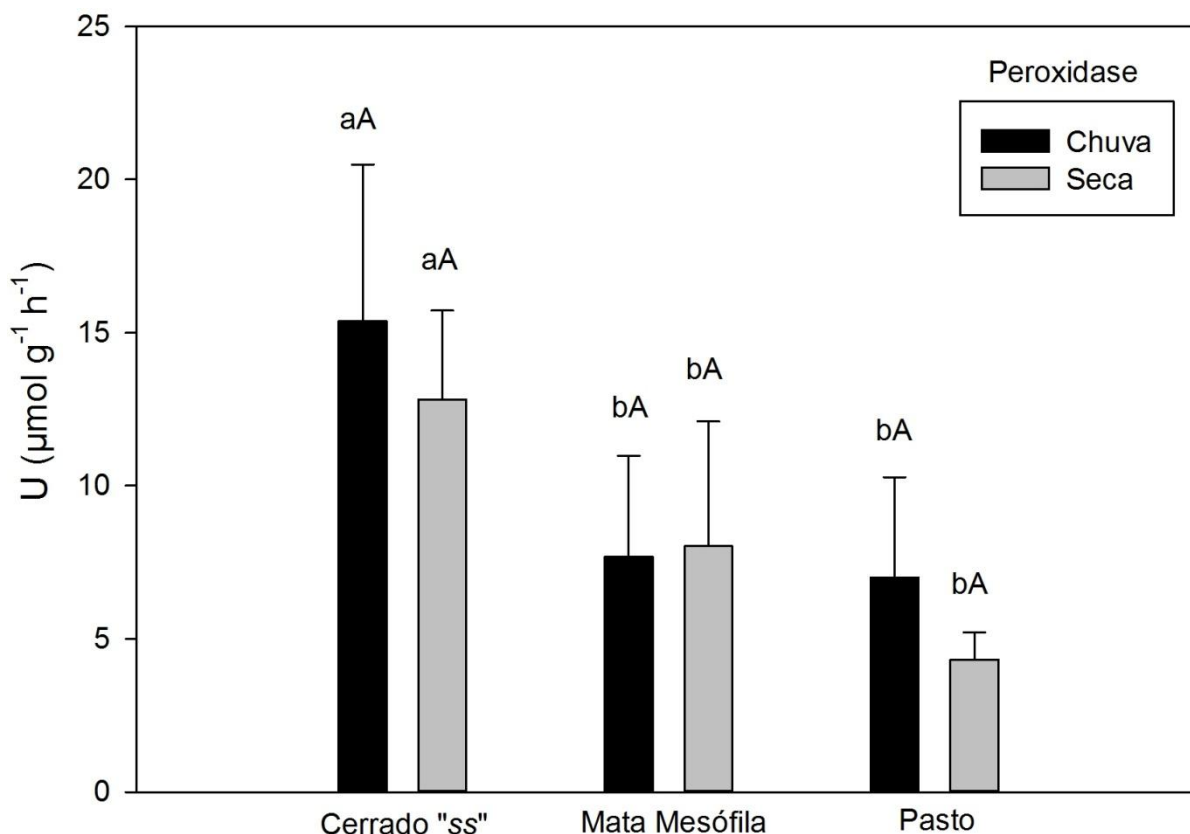


Figura 20. Atividade anual da enzima peroxidase em diferentes classes de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre as classes de uso do solo, enquanto diferentes letras maiúsculas representam variações significativas e entre os períodos do ano ($P < 0,05$; ANOVA Three-way seguida pelo teste de Tukey *post-hoc*).

A maior atividade de peroxidase observada nos solos de Cerrado “ss” pode ter ocorrido devido a três possíveis causas, indicadas a seguir:

1 – Composição físico-química do solo: as cores que variam de vermelho a vermelho alaranjado apresentadas pelos solos de Cerrado “ss” indicam a grande presença de óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio. Em geral, esses óxidos e hidróxidos, bem como as argilas de silicato, contribuem para que ocorra reações de humificação, proporcionando locais de ligação e aceitação de elétrons, que catalisam a formação de semiquinonas e outras espécies reativas de fenóis (SINSABAUGH, 2010).

2 – Presença de indutores de expressão gênica: a expressão da peroxidase parece ser

uma resposta ao estresse oxidativo, ou seja, um aumento na concentração de espécies reativas de oxigênio, que pode ser criado por várias combinações de oxigênio e disponibilidade de nutrientes (RABINOVICH et al., 2004).

3 – Presença de ativadores enzimáticos: a enzima apresentou alta correlação com o teor de alumínio presente no solo, esse fato pode estar associado a participação dessas enzimas na resposta antioxidativa a altas concentrações de alumínio. Kouakou et al. (2008) em estudo de caracterização de peroxidases, constatou que a presença do íon Al^{3+} é responsável por aumentos acentuados na atividade dessa enzima, sugerindo que esse íon atue como co-fator ou ativador enzimático.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho demonstram que o estudo das enzimas α e β -glicosidase, fosfatase ácida, fenoxidase e peroxidase são indicadores sensíveis que podem ser utilizados no monitoramento da qualidade dos solos do Cerrado. A sazonalidade exerce grande influência sobre as propriedades físico-químicas do solo, e conseqüentemente, na produção e atividade das enzimas.

A presença de matéria orgânica e íons bivalentes exerceram grande influência na atividade das enzimas α e β -glicosidase, que apresentaram variações significativas entre os períodos do ano e as classes de uso do solo analisadas. A atividade das enzimas α e β -glicosidase apresentou correlação positiva com vários fatores relacionados à fertilidade do solo, mostrando que a sua presença é um importante indicador da qualidade desse ambiente.

A enzima fosfatase ácida se mostrou reprimível por fosfato, sugerindo que a sua presença no solo está relacionada a carência do fósforo nesse ambiente.

As oxidoredutases estudadas demonstraram comportamento distinto entre os períodos do ano e classes de uso do solo, entretanto, ambas demonstraram estar associadas ao estresse oxidativo do solo, servindo assim como indicadoras do grau de toxicidade desse ambiente.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Compreender a distribuição espacial de enzimas indicadoras da fertilidade do solo, possibilitando assim o estabelecimento de parâmetros eficientes para a sua utilização como bioindicadores de alterações ambientais.

Identificar o impacto das mudanças climáticas sobre a atividade enzimática em solos de clima tropical, com o intuito de preveni-los e gerenciá-los.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA-MARTINEZ, V.; MOORE-KUCERA, J.; COTTON, J.; GARDNER, J.; WESTER, D. Soil enzyme activity during the 2011 Texas record drought/heat wave and implications to biogeochemical cycling and organic matter dynamics. **Applied Soil Ecology**, v. 75, p. 43-51, 2014.
- ADÁMOLI, J.; MACEDO, J.; AZEVEDO, L. G.; MADEIRA NETO, J. Caracterização da região dos Cerrados. In: GOEDERT, W. J. **Solos dos cerrados: tecnologias e estratégias de manejo**. Planaltina, DF: Embrapa-CPAC, 1986. p. 33-74.
- ADUAN, R. E.; VILELA, M. F.; REIS JÚNIOR, F. B. **Os grandes ciclos biogeoquímicos do planeta**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2004. 25p.
- ALLISON, V. J.; CONDRON, L. M.; PELTZER, D. A.; RICHARDSON, S. J.; TURNER, B. L. Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, n. 7, p. 1770-1781, 2007.
- ARAGÃO, D. B.; CARVALHO, C. J. R.; KATO, O. R.; ARAÚJO, C. M.; SANTOS, M. T. P.; JÚNIOR, M. M. Avaliação de indicadores de qualidade do solo sob alternativas de recuperação do solo no Nordeste Paraense. **Acta Amazonica**, v. 42, n.1, p. 11-18, 2012.
- ARAÚJO, P. A.; MIES, V.; MIRANDA, O. Subcelular distribution of low and high molecular weight acid phosphatases. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 452, n. 8, p. 121-130, 1976.
- BALDRIAN P.; VALÁSKOVÁ, V.; MERHAUTOVÁ, V.; GABRIEL, J. Degradation of lignocellulose by *Pleurotus ostreatus* in the presence of copper, manganese lead and zinc. **Research Microbiology**, v. 156, n. 5-6, p. 670-676, 2005.
- BALDRIAN, P.; SNAJDR, J.; MERHAUTOVÁ, V.; DOBIÁSOVÁ, P.; CAJTHAML, T.; VALÁSKOVÁ, V. Responses of the extracellular enzyme activities in hardwood forest to soil temperature and seasonality and the potential effects of climate change. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 56, p. 60-68, 2013.
- BERGSTROM, D. W.; MONREAL, C. M. Increased soil enzyme activities under two row crops. **Soil Science Society of America Journal**, v. 62, n. 5, p. 1295-1302, 1998.
- BERRIN, J. G.; CZJZEK, M.; KROON, P. A.; MCLAUCHLAN, W. R.; PUIGSERVER, A.; WILLIAMSON, G.; JUGE, N. Substrate (aglycone) specificity of human cytosolic beta-glucosidase. **Biochemical Journal**, v. 373, n. 1, p. 41-48, 2003.
- BERTOLDO, C.; ANTRANIKIAN, G. Starch-hydrolyzing enzymes from thermophilic archaea and bacteria. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 6, n. 2, p. 151-160, 2002.
- BHATIA, Y.; MISHRA, S.; BISARIA, V. S. Microbial β -glucosidase: cloning, properties and applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 22, n. 4, p. 375-407, 2002.

BOERNER, R. E. J.; BRINKMAN, J. A.; SMITH, A. Seasonal variations in enzyme activity and organic carbon in soil of a burned and unburned hardwood forest. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 37, n. 8, 1419-1426, 2005.

BOYD, S. A.; MORTLAND, M. M. Enzyme interactions with clays and clay-organic matter complexes. In: BOLLAG, J. M.; STOTZKY, G. **Soil Biochemistry**. 6. ed. New York: Marcel Dekker, 1990. p. 1-28.

BRENDA: **The Comprehensive Enzyme Information System**. Department of Bioinformatics and Biochemistry, Technische Universität Braunschweig. Disponível em <<http://www.brenda-enzymes.org/>>. Acesso em: ago. 2013.

BURNS, R. G. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.14, n. 5, p. 423-427, 1982.

BURNS, R. G. Interactions of enzymes with soil mineral and organic colloids. In: HUANG, P.M.; SCHNITZER, M. **Interactions of soil minerals with natural organics and microbes**. Madison: Soil Science Society of America, p. 429-451, 1986.

BUSTO, M. D.; PEREZ-MATEOS, M. Extraction of humic- β -glucosidase fractions from soil. **Biology and Fertility of Soil**, v. 20, n. 1, p. 77-82, 1995.

BUSTO, M. D.; PEREZ-MATEOS, M. Characterization of β -D-glucosidase extracted from soil fractions. **European Journal of Soil Science**, v. 51, n. 2, p. 193-200, 2000.

CASTRO, A. M.; PEREIRA JR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.

CHANCE, B.; MAEHLY, A. C. Assay of catalase and peroxidase. **Methods in Enzymology**, v. 2, n. 1, p. 764-775, 1955.

CHIBA, S. Alpha-glucosidases. In: Handbook of Amylases and Related Enzymes, **The Amylase Research Society of Japan**. Oxford: Pergamon Press, 1988. p. 104-105.

CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S. Estudo comparative de amidos termoplásticos derivados de milho com diferentes teores de amilose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005.

CRIQUET, S.; FERRE, E.; FARNET, A. M.; LE PETIT, J. Annual dynamics of phosphatase activities in an evergreen oak litter: influence of biotic and abiotic factors. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 36, n. 7, p. 1111-1118, 2004.

CRIQUET, S.; TAGGER, S.; VOGT, G.; LE PETIT, J. Endoglucanase and β -glucosidase activities in an evergreen oak litter: annual variation and regulating factors. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 36, n. 8, p. 1111-1118, 2002.

D'ANDRÉA, A. F.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, n. 1, p. 913-923, 2002.

DENG, S. P.; TABATABAI, M. A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils. III. Phosphatases and arylsulfatases. **Biology and Fertility of Soils**, v. 24, n. 2, p. 141–146, 1997.

DICK, R. P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (eds.). **Defining Soil Quality for a Sustainable Environment**. Madison: Soil Science Society of America Journal, Special publication, vol. 35, 1994, p. 107–124.

DICK, W. A.; TABATABAI, M. A. Significance and potential uses of soil enzymes. In: METTING JUNIOR, F.B. (eds). **Soil microbial ecology applications in agricultural and environmental management**. New York: Marcel Dekker, p. 95-127, 1993.

DISSOUS, C.; ANSART, J. F.; CHERON, A.; KREMBEL, J. Purification of rat liver lysosomal alpha-glucosidase. **Analytical Biochemistry**, v. 116, p. 35-38, 1981.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (eds). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America Journal, (Publication Number 35), p. 3-22, 1994.

DURAN, N.; ROSA, M. A.; DANNIBALE, A.; GIANFREDA, L. Applications of laccases and tyrosinases (phenoloxidases) immobilized on different supports: a review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, n. 7, p. 907–931, 2002.

EIVAZI, F., TABATABAI, M. A. Glucosidases and galactosidases in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 20, n. 5, p. 601–606, 1988.

ELIASSON, A. C. **Starch in food – Structure, function and applications**. New York: Boca Raton, CRC, 2004. p. 605.

ELLIOTT, E. T. 1997. Rationale for developing bioindicators of soil health. In: PANKHURST, C.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R. (eds). **Biological indicators of soil health**. New York: CAB International, p. 49-78.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária); Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo, Rio de Janeiro, **Manual de análises de solo**. 2a ed. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS, 2004, p. 638.

EVANGELISTA, C. R.; PARTELLI, F. L.; FERREIRA, E. P. B.; PIRES, F. R. Atributos microbiológicos do solo na cultura de cana-de-açúcar sob manejo orgânico e convencional. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1549-1562, 2012.

FEIGL, B. J.; SPARLING, G. P.; ROSS, D. J. Soil microbial in Amazonian soils: evaluations of methods and estimates of pool sizes. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 27, n. 11, p. 1467-1472, 1995.

FERREIRA, A. S.; CAMARGO, F. A. O.; VIDOR, C. Utilização de microondas na avaliação

da biomassa microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, n. 1, p. 991-996, 1999.

FRANDBSEN, T. P.; PALCIC M. M.; SVENSSON, B. Substrate recognition by three family 13 yeast α -glucosidases. **European Journal Biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 728–734, 2002.

FRANKENBERGER, W. T., DICK, W. A. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. **Soil Science Society of America Journal**, v. 47, n. 5, p. 945–951, 1983.

FUKUDA, T.; KATO-MURAI, M.; KADONOSONO, T.; SAHARA, H.; HATA, Y.; SUYE, S.; UEDA, M. Enhancement of substrate recognition ability by combinatorial mutation of beta-glucosidase displayed on the yeast cell surface. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 76, n. 5, p. 1027-1033, 2007.

GAO, Z.; HAN, Z.; XIAO, X. Purification and characterization of polyphenol oxidase from red *Swiss chard* (*Beta vulgaris* subspecies *cicla*) leaves. **Food Chemistry**, v. 117, n. 2, p. 342-348, 2009.

GIÁCOMO, R. G.; PEREIRA, M. G.; FERNANDES, M. M. Carbono da biomassa da serrapilheira e do solo em áreas com diferentes tipos de vegetação na floresta nacional Mário Xavier, RJ. **Revista da Universidade Rural - Série Ciências da Vida**, v. 25, n. 2, 2005.

GIANNESI, G. C.; POLIZELI, M. L. T. M.; TERENCEZI, H. F.; JORGE, J. A. A novel α -glucosidase from *Chaetomium thermophilum* var. *Coprophilum* that converts maltose into trehalose: Purification and partial characterisation of the enzyme. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 8, p. 1729-1735, 2006.

GIANFREDA, L., BOLLAG, J. M. Effect of soil on behavior of immobilized enzyme. **Soil Science Society of America Journal**, v. 58, n. 6, p. 1672-1681, 1994.

GIANFREDA, L.; CRISTOFARO, A.; RAO, M. A.; VIOLANTE, A. Kinetic behavior of synthetic organo-mineral-urease complexes. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 59, n. 3, p. 811-815, 1995.

GIL-SOTRES, F.; TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M. C.; SEOANE, S. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 37, n. 5, p. 877-887, 2005.

GOEDERT, W. J. Management of acid tropical soils in the savannas of South America. In: IBSRAM (International Board for Soil Research and Management). **Management of acid tropical soils for sustainable agriculture: proceedings of an IBSRAM inaugural workshop**. Bangkok, Thailand, p. 109-27, 1987.

GLEW, R. H.; PETERS, S. P.; CHRISTOPHER, A. R. Isolation and characterization of beta-glucosidase from the cytosol of rat kidney cortex. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 422, n. 1, p. 179-199, 1976.

GREGORICH, E. G.; CARTER, M. R.; ANGERS, D. A.; MONREAL, C. M.; ELLERT, B. H. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. **Canadian Journal Soil Science**, v. 74, n. 4, p. 367-385, 1994.

HAIDER, K.; MARTIN, J. P.; FILIP, Z. Humus biochemistry. In: PAUL, E. A., MCLAREN, A. D. (eds.). **Soil Biochemistry**. Marcel Dekker, New York, p. 195–244, 1975.

HAN, Y.; CHEN, H. Characterization of beta-glucosidase from corn stover and its application in simultaneous saccharification and fermentation. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 14, p. 6081-6087, 2008.

HARRISON, A. F.; PEARCE, T. Seasonal variation of phosphatase activity in woodland soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 11, n. 4, p. 405-410, 1979.

HENRISSAT, B. A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. **Biochemical Journal**, v. 280, n. 2, p. 309–316, 1991.

HUANG, P. M. Role of soil minerals in transformations of natural organics and xenobiotics in soil. IN: BOLLAG, J-M.; STOTSKY, G. **Soil Biochemistry**, vol. 6. (eds). Marcel Dekker, New York, p. 29-989, 1990.

IM, H.; HENSON, C. A. Characterization of high pl alpha-glucosidase from germinated barley seeds: substrate specificity subsite affinities and active-site residues. **Carbohydrate Research**, v. 277, p. 145-159, 1995.

ISE, T.; MOORCROFT, P. R. The global-scale temperature and moisture dependencies of soil organic carbon decomposition: an analysis using a mechanistic decomposition model. **Biogeochemistry**. v. 80, n. 1, p. 217-231, 2006.

JANDA, L.; PAVELKA, P.; TICHÝ, P.; SPÍZEK, J.; PETRÍČEK, M. Production and properties of alpha-glucosidase from the thermotolerant bacterium *Thermomonospora curvata*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 83, n. 4, p. 470-476, 1997.

JIANG, C.; LI, S.; LUO, F.; JIN, K. WANG, Q.; HAO, Z.; WU, L.; ZHAO, G.; MA, G.; SHEN, P.; TANG, X.; WU, B. Biochemical characterization of two novel β -glucosidase genes by metagenome expression cloning. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 3272- 3278, 2011.

KELLNER, H.; LUIS, P.; ZIMDARS, B.; KIESEL, B.; BUSCO, F. Diversity of bacterial laccase-like multicopper oxidase genes in forest and grassland Cambisol soil samples. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 3, p. 638-648, 2008.

KEUM, Y. S.; LI, Q. X. Copper dissociation as a mechanism of fungal laccase denaturation by humic acid. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 64, n. 4, p. 588–592, 2004.

KNIGHT, T. R.; DICK, R. P. Differentiating microbial and stabilized β -glucosidase activity relative to soil quality. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 36, n. 12, p. 2089-2096, 2004.

KONG, K. H.; HONG, M. P.; CHOI, S.S.; KIM, Y.T.; CHO, S.H. Purification and characterization of a highly stable tyrosinase from *Thermomicrobium roseum*. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 31, n. 2, p. 113-118, 2000.

KOSTREWA, D.; WYSS, M.; D'ARCY, A.; VAN LOON, A. P. Crystal structure of *Aspergillus niger* pH 2,5 acid phosphatase at 2,4 Å resolution. **Journal of Molecular Biology**, v. 288, n. 5, p. 965-974, 1999.

KOUAKOU, T. H.; DUE, E. A.; KOUADIO, N. E.; NIAMKE, S.; KOUADIO, Y. J.; MERILLON, J. M. Purification and characterization of cell suspensions peroxidase from cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 157, n. 3, p. 575-592, 2008.

KRÄMER, S.; GREEN, D. M. Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in a semiarid woodland. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, n. 2, p. 179-188, 2000.

LEAL, J.; SQUINA, F. M.; MARTINEZ-ROSSI, N. M.; ROSSI, A. The transcription of the gene for iso-orotate decarboxylase (IDCase), an enzyme of the thymidine salvage pathway, is downregulated in the *preg^c* mutant strain of *Neurospora crassa* grown under phosphate starvation. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 8, p. 1011-1015, 2007.

LEMARCO, K. L.; GLEW, R. H. Galactosylsphingosine inhibition of the broad-specificity cytosolic beta-glucosidase of human liver. **Archives of Biochemistry Biophysics**, v. 236, n. 2, p. 669-676, 1985.

LINDQVIST, Y.; SCHNEIDER, G.; VIHKO, P. Crystal structures of rat acid phosphatase complexed with the transition-state analogs vanadate and molybdate Implications for the reaction mechanism. **European Journal of Biochemistry**, v. 221, n. 1, p. 139-142, 1994.

LIU, L.; ZENG, Z.; ZENG, G.; CHEN, M.; ZHANG, Y.; ZHANG, J.; FANG, X.; JIANG, M.; LU, L. Study on binding modes between cellobiose and β -glucosidases from glycoside hydrolase family 1. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 2, p. 837-843, 2012.

LYND, L. R.; WEIMER, P. J.; ZYL, W. H. V.; PRETORIUS, I. S. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbial and Molecular Biology Reviews**, v. 66, n. 4, p. 506-577, 2002.

MARTENS, D. A.; JOHANSON, J. B.; FRANKENBERGER, W. T. J. Production and persistence of soil enzymes with repeated addition of organic residues. **Soil Science**, v. 153, n. 1, p. 53-61, 1992.

MARCHIORI JÚNIOR, M.; MELO, W. J. Carbono, carbono da biomassa microbiana e atividade enzimática em um solo sob mata natural, pastagem e cultura de algodoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, n. 1, p. 257-263, 1999.

MASCIANDARO, G.; MACCI, C.; DONI, S.; MASERTI, B. E.; LEO, A. C.; CECCANTI, B.; WELLINGTON, E. Comparison of extraction methods for recovery of extracellular β -glucosidase in two different Forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2156-2161, 2008.

MAZZUCA, S.; SPADAFORA, A.; INNOCENTI, A. M. Cell and tissue localization of beta-glucosidase during the ripening of olive fruit (*Olea europaea*) by *in situ* activity assay. **Plant Science**, v. 171, n. 6, p. 726-733, 2006.

MENDES, I. C.; REIS JÚNIOR, F. B. **Microrganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos solos: uma análise crítica**. Embrapa Cerrados, Planaltina – DF, Documento 85, 2003. 26p.

MENDES, I. C.; SOUZA, L. V.; RESCK, D. V. S.; GOMES, A. C. Propriedades biológicas em agregados de um LE sob plantio convencional e direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 1, p. 435-443, 2003.

MEHRANI, H.; STOREY, K. B. Characterization of alpha-glucosidases from rainbow trout liver. **Archives Biochemistry Biophysics**, v. 306, n. 1, p. 188-194, 1993.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

MOSCATELLI, M. C.; LAGOMARSINO, A.; GARZILLO, A. M. V.; PIGNATARO, A.; GREGO, S. β -Glucosidase kinetic parameters as indicators of soil quality under conventional and organic cropping systems applying two analytical approaches. **Ecological Indicators**, v. 13, n. 1, p. 322-327, 2012.

MUNSELL SOIL COLOR COMPANY. **Munsell soil color charts**, New York, 2000.

NAKAS, J. P.; GOULD, W. D.; KLEIN, D. A. Origin and expression of phosphatase activity in a semi-arid grassland soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 19, n. 1, p. 13-18, 1987.

NAKKAHARAT, P.; HALTRICH, D. Purification and characterisation of an intracellular enzyme with beta-glucosidase and beta-galactosidase activity from the thermophilic fungus *Talaromyces thermophilus* CBS 236.58. **Journal of Biotechnology**, v. 123, n. 3, p. 304-313, 2006.

NASA. **TRMM Online Visualization and Analysis System (TOVAS)**. Disponível em: <<http://disc2.nascom.nasa.gov/Giovanni/tovas/>>. Acesso em: jun. 2013.

NANNIPIERI, P.; SEQUI, P.; FUSI, P. Humus and enzyme activity. In: PICCOLO, A. (ed.) **Humic Substances in Terrestrial Ecosystems**. New York: Elsevier, p. 293-328, 1996.

NISHIMOTO, M.; KUBOTA, M.; TSUJI, M.; MORI, H.; KIMURA, A.; MATSUI, H.; CHIBA, S. Purification and substrate specificity of honeybee, *Apis mellifera* L., alpha-glucosidase III. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 65, n. 7, p. 1610-1616, 2001.

NÚÑEZ-DELICADO, E.; SOJO, M. M.; GARCÍA-CARMONA, F.; SÁNCHEZ-FERRER, A. Partial purification of latent persimmon fruit polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 7, p. 2058-2063, 2003.

OKUYAMA, M.; OKUNO, A.; SHIMIZU, N.; MORI, H.; KIMURA, A.; CHIBA, S. Carboxyl group of residue Asp647 as possible proton donor in catalytic reaction of alpha-glucosidase from *Schizosaccharomyces pombe*. **European Journal Biochemistry**, v. 268, n. 8, p. 2270-2280, 2001.

OLUSANYA, O.; OLUTIOLA, P. O. Characterization of maltase from enteropathogenic *Escherichia coli*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 36, n. 2-3, p. 239-244, 1986.

PAINBENI, E.; VALLES, S.; POLAINA, J.; FLORS, A. Purification and characterization of a *Bacillus polymyxa* beta-glucosidase expressed in *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**, v. 174, n. 9, p. 3087-3091, 1992.

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

POINTING, S. B.; PELLING, A. L.; SMITH, G. J. D.; HYDE, K. D.; REDDY, C. A. Screening of basidiomycetes and xylariaceous fungi for lignin peroxidase and laccase gene-specific sequences. **Mycological Research**, v. 109, n. 1, p. 115-124, 2005.

PRIETZEL, J. Arylsulfatase activities in soil of the Black Forest/Germany – seasonal variation and effect of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ fertilization. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, n. 10, p. 1317-1328, 2001.

RABINOVICH, M. L.; BOLOBOVA, A. V.; VASILCHENKO, L. G. Fungal decomposition of natural aromatic structures and xenobiotics: A review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 1-17, 2004.

RAMALHO FILHO, A.; BEEK, K. J. **Sistema da avaliação da aptidão agrícola das terras**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa – CNPS. 1994. 65p.

RAO, M. A.; VIOLANTE, A.; GIANFREDA, L. Interaction of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, n. 7, p. 1007-1014, 2000.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S.P. (ed). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA – CPAC, p. 89-

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

SCHLOTTER, M.; DILLY, O.; MUNCH, J. C. Indicators for evaluating soil quality. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v. 98, n. 1-3, p. 255-262, 2003.

SCHÖNERT, S.; BUDER, T.; DAHL, M. K. Identification and enzymatic characterization of the maltose-inducible alpha-glucosidase MaIL (sucrase-isomaltase-maltase) of *Bacillus subtilis*. **Journal of Bacteriology**, v. 180, n. 9, p. 2574-2578, 1998.

SILVA, C. F.; PEREIRA, M. G.; MIGUEL, D. L.; FEITORA, J. C. F.; LOSS, A.; MENEZES, C. E. G.; SILVA, E. M. R. Carbono orgânico total, biomassa microbiana e atividade enzimática do solo de áreas agrícolas, florestais e pastagem no médio Vale do Paraíba do Sul (RJ). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 6, 2012.

SINSABAUGH, R. L. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, n. 3, 2010.

SINSABAUGH, R. L.; KLUG, M. J.; COLLINS, H. P.; YEAGER, P. E.; PETERSEN, S. O. Characterizing soil microbial communities. In: ROBERTSON, G. P.; COLEMAN, D.C.; BLEDSOE, C. S.; SOLLINS, P. (eds). **Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research**. Long-term ecological research. Network series. New York: Oxford University

Press, Cap.16, p. 318-348, 1999.

SINSABAUGH, R. L.; ANTIBUS, R. K.; LINKINS, A. E.; MCCLAUGHERTY, C. A.; RAYBURN, L.; REPERT, D.; WEILAND, T. Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity. **Ecology**, v. 74. p. 1586-1593, 1993.

SMITH, J. L.; PAUL, E. A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J. M.; STOTZKY, G. (eds.) **Soil Biochemistry**, New York, v. 6, p. 357-396, 1990.

SOUZA-NETO, J. A.; MACHADO, F. P.; LIMA, J. B.; VALLE, D.; RIBOLLA, P. E. Sugar digestion in mosquitoes: identification and characterization of three midgut alpha-glucosidase of the neo-tropical malaria vector *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae). **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 147, n. 4, p. 993-1000, 2007.

SPARLING, G. P.; WEST, A. W. A direct extraction method to estimate soil microbial C: Calibration in situ using microbial respiration and ¹⁴C labeled cells. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 20, n. 3, p. 337-343, 1988.

SPEIR, T. W.; ROSS, D. J. Soil phosphatase and sulphatase. In: Burns, R. G. (ed). **Soil Enzymes**. Academic Press, New York, p. 197-245, 1978.

STATSOFT, INC. 2005. **Statistica** (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com.

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

STOTZKY, G. Microbial respiration. In: BLACK, C. A., Eds. Methods of soil analysis. Part 2. Madison, **American Society of Agronomy**, v. 965, p. 1550-1572.

SYLVIA, D. M.; FUHRMANN, P. G.; HARTEL, P. G.; ZUBERER, D. A. Principles and applications of soil microbiology. **Prentice Hall**, New Jersey, p. 550, 1999.

STEWART, J. C.; HEPTINSTALL, J. Cellulase and hemicellulase from *Aspergillus fumigates* Fresenius. **Methods in Enzymology**, v. 160, p. 264-274, 1988.

TABATABAI, M. A. Soil enzyme. In: WAVER, R.W.; ANGLE, J. S.; BOTTOMLEY, P. J. (eds). Methods of soil Analyses. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties, Madison: **Soil Science Society of America**, Part 2, p. 778-835, 1994.

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

TURCO, R. F.; BLUME, E. Indicators of soil quality. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. G. R.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. (Org.). Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. Viçosa: SBCS; Lavras: UFLA/DCS, p. 529-549, 1999.

TURCO, R. F.; KENNEDY, A. C.; JAWSON, M. D. Microbial indicators of soil quality. In:

DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (eds) Defining soil quality for a sustainable environment. Madison: **Soil Science Society of America**, p. 73-90, 1994.

TURNER, B. L.; HAYGARTH, P. M. Phosphatase activity in temperate pasture soils: Potential regulation of labile organic phosphorus turnover by phosphodiesterase activity. **Science of The Total Environment**, v. 344, n. 1-3, p. 27-36, 2005.

TURNER, B. L.; HOPKINS, D. W.; HAYGARTH, P. M.; OSTLE, N. β -Glucosidase activity in pasture soils. **Applied Soil Ecology**, v. 20, n. 2, p. 157-162, 2002.

VICENT, J. B.; CROWDER, M. W.; AVERILL, B. A. Hydrolysis of phosphate monoester: a biological problem with multiple chemical solutions. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 17, n. 3, p. 105-110, 1992.

VIHINEN, M.; MÄNTSÄLÄ, P. Microbial amyolytic enzymes. **Critical Reviews Biochemical and Molecular Biology**, v. 24, n. 4, p. 329-418, 1989.

YAMASAKI, Y.; KONNO, H. Purification and properties of alpha-glucosidase from suspension-cultured sugar-beet cells. **Phytochemistry**, v. 30, n. 9, p. 2861-2863, 1991.

YAN, J.; PAN, G.; LI, L.; QUAN, G.; DING, C.; LUO, A. Adsorption, immobilization, and activity of b-glucosidase on different soil colloids. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 348, n. 2, p. 565-570, 2010.

WANG, X. C.; LU, Q. Beta-glucosidase activity in paddy soils of the taihu lake region, China. **Pedosphere**, v. 16, n. 1, p. 118-124, 2006.

WITHERS, S. G. Mechanisms of glycosyl transferases and hydrolases. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 44, n. 4, p. 325-337, 2001.

WITTMANN, C.; KÄHKÖNEN, M. A.; ILVESNIEMI, H.; KUROLA, J.; SALKINOJA-SALONEN, M. S. Areal activities and stratification of hydrolytic enzymes involved in the biochemical cycles of carbon, nitrogen, sulphur and phosphorus in podsolized boreal forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 36, n. 3, p. 425-433, 2004.

YANG, L.; AKAO, T.; KOBASHI, K. Purification and characterization of a geniposide-hydrolyzing beta-glucosidase from *Eubacterium sp.* A-44, a strict anaerobe from human faces. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 18, p. 1175-1178, 1995.

YAPI, D. Y. A.; GNAKRI, D.; NIAMKE, S. L.; KOUAME, L. P. Purification and biochemical characterization of a specific β -glucosidase from the digestive fluid of larvae of the palm weevil, *Rhynchophorus palmarum*. **Journal of Insect Science**, v. 9, n. 4, p. 1-13, 2009.

YUN, S. I.; JEONG, C. S.; CHUNG, D. K.; CHOI, H. S. Purification and some properties of a β -glucosidase from *Trichoderma harzianum* type c-4. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 65, n. 9, p. 293-306, 2004.

ZANOELO, F. F.; LOURDES, M.; POLIZELI, T. M.; TERENCE, H. F.; JORGE, J. A. β -glucosidase activity from the thermophilic fungus *Scytalidium thermophilum* is stimulated by glucose and xylose. **FEMS Microbiology Letters**, v. 240, n. 2, p. 137-143, 2004.

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Análise de variância mostrando o efeito da sazonalidade, diferentes classes de uso do solo, e pontos de amostragem dentro de uma mesma classe de uso sobre a atividade das enzimas avaliadas.....	53
APÊNDICE 2 – Matriz de correção de Pearson indicando a associação entre diferentes variáveis e a atividade enzimática.....	56

APÊNDICE 1

Tabela 1. Efeito da sazonalidade, diferentes classes de uso do solo, e pontos de amostragem dentro da mesma classe de uso sobre a atividade da enzima α -glicosidase.

Efeitos	SQ	GL	QM	F	P
Intercepção	3772,794	1	3772,794	161,5831	0,000000*
Pontos	23,982	2	11,991	0,5135	0,606875
Períodos do ano	649,814	1	649,814	27,8306	0,000051*
Classes de uso do solo	568,600	2	284,300	12,1761	0,000452*
Pontos*Períodos do ano	5,319	2	2,660	0,1139	0,892977
Pontos*Classes de uso do solo	39,273	4	9,818	0,4205	0,791749
Períodos do ano*Classes de uso do solo	216,667	2	108,334	4,6398	0,023709*
Pontos*Períodos do ano*Classes de uso do solo	14,930	4	3,732	0,1599	0,955905
Erros	420,281	18	23,349		

* significância de $P < 0,05$.

Tabela 2. Efeito da sazonalidade, diferentes classes de uso do solo, e pontos de amostragem dentro da mesma classe de uso sobre a atividade da enzima β -glicosidase.

Efeitos	SQ	GL	QM	F	P
Intercepção	17633794	1	17633794	360,4764	0,000000*
Pontos	58215	2	29107	0,5950	0,562041
Períodos do ano	706175	1	706175	14,4359	0,001313*
Classes de uso do solo	3762992	2	1881496	38,4622	0,000000*
Pontos*Períodos do ano	517769	2	258884	5,2922	0,015570*
Pontos*Classes de uso do solo	559944	4	139986	2,8616	0,053605
Períodos do ano*Classes de uso do solo	386201	2	193100	3,9474	0,037891*
Pontos*Períodos do ano *Classes de uso do solo	430777	4	107694	2,2015	0,109818
Erros	880524	18	48918		

* significância de $P < 0,05$.

Tabela 3. Efeito da sazonalidade, diferentes classes de uso do solo, e pontos de amostragem dentro da mesma classe de uso sobre a atividade da enzima fosfatase ácida.

Efeitos	SQ	GL	QM	F	P
Intercepção	53367945	1	53367945	516,8270	0,000000*
Pontos	33787	2	16893	0,1636	0,850330
Períodos do ano	198800	1	198800	1,9252	0,182222
Classes de uso do solo	1073737	2	536869	5,1992	0,016513*
Pontos*Períodos do ano	244388	2	122194	1,1834	0,328977
Pontos*Classes de uso do solo	383125	4	95781	0,9276	0,469865
Períodos do ano*Classes de uso do solo	1197748	2	598874	5,7996	0,011374*
Pontos*Períodos do ano*Classes de uso do solo	745512	4	186378	1,8049	0,171888
Erros	1858694	18	103261		

* significância de $P < 0,05$.

Tabela 4. Efeito da sazonalidade, diferentes classes de uso do solo, e pontos de amostragem dentro da mesma classe de uso sobre a atividade da enzima fenoxidase.

Efeitos	SQ	GL	QM	F	P
Intercepção	26,46287	1	26,46287	118,6818	0,000000*
Pontos	0,0371	2	0,01836	0,0823	0,921316
Períodos do ano	0,42480	1	0,42480	1,9051	0,184406
Classes de uso do solo	0,11872	2	0,05936	0,2662	0,769237
Pontos*Períodos do ano	0,52244	2	0,26122	1,1715	0,332431
Pontos*Classes de uso do solo	0,38355	4	0,09589	0,4300	0,785074
Períodos do ano*Classes de uso do solo	1,63173	2	0,81587	3,6590	0,046407*
Pontos*Períodos do ano*Classes de uso do solo	0,35969	4	0,08992	0,4033	0,803772
Erros	4,01352	18	0,22297		

* significância de $P < 0,05$.

Tabela 5. Efeito da sazonalidade, diferentes classes de uso do solo, e pontos de amostragem dentro da mesma classe do solo sobre a atividade da enzima peroxidase.

Efeitos	SQ	GL	QM	F	P
Intercepção	3049,203	1	3049,203	212,4545	0,000000*
Pontos	16,244	2	8,122	0,5659	0,577632
Períodos do ano	23,868	1	23,868	1,6630	0,213520
Classes de uso do solo	459,490	2	229,745	16,0076	0,000101*
Pontos*Períodos do ano	2,535	2	1,267	0,0883	0,915874
Pontos*Classes de uso do solo	46,189	4	11,547	0,8046	0,538156
Períodos do ano*Classes de uso do solo	17,628	2	8,814	0,6141	0,552071
Pontos*Períodos do ano*Classes de uso do solo	44,357	4	11,089	0,7726	0,557096
Erros	258,341	18	14,352		

* significância de $P < 0,05$.

APÊNDICE 2

Tabela 6. Matriz de correção de Pearson indicando a associação entre diferentes variáveis e a atividade enzimática.

	α -glicosidase	β -glicosidase	Fosf. Ácida	Fenoloxidase	Peroxidase
pH	0,260680266	0,259565211	-0,464363031	0,058629016	-0,862507085*
Umidade	0,794267447	0,870229531*	-0,174075049	0,043964724	-0,329383162
MO	0,879062975*	0,931653424*	0,109027756	0,235646721	-0,074033611
C. Org. Total	0,889983596*	0,928736397*	0,1302802	0,236810236	-0,063762791
CBM	0,936436342*	0,934688976*	0,198847131	0,229681959	0,02760534
N total	0,864671237*	0,906726488*	0,152080184	0,236237178	-0,095307585
Ca	0,717619408	0,702262232	-0,262516821	0,134816924	-0,547476925
Mg	0,641653621	0,634717041	-0,427358838	0,111239834	-0,64306503
CTC	0,769677741	0,757175849	-0,251366085	0,124871143	-0,484942318
P	0,709496423	0,847613176*	-0,230292412	0,15285503	-0,350317027
K	0,316726347	0,681956269	-0,003480566	0,260519551	-0,105168005
Sat. Al	-0,149415692	-0,144859478	0,603209245	0,028407239	0,927777174*
Sat. Base	0,403857509	0,434249073	-0,463633932	0,027280616	-0,788824842
Argila	-0,572268137	-0,830102807*	-0,329879969	-0,262053931	-0,142208913
α-glicosidase		0,858553521*	0,202374693	0,111070756	0,093602509
β-glicosidase			0,166643538	-0,00041052	0,17395062
Fosf. Ácida				0,057116603	0,753786058
Fenoloxidase					-0,085328395

* significância de $P < 0,05$