



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS**  
**Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas**  
**Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Recursos Naturais do Cerrado**

**LECIANA DE MENEZES SOUSA ZAGO**

**Uso de enzimas como bioindicadores em solos com diferentes culturas no  
Cerrado goiano**

Anápolis

2016

LECIANA DE MENEZES SOUSA ZAGO

**Uso de enzimas como bioindicadores em solos com diferentes culturas no  
Cerrado goiano**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Naturais do Cerrado, da Universidade Estadual de Goiás para obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais do Cerrado.

Orientadora: Profa. Dra. Samantha Salomão Caramori.


Anápolis


2016


LECIANA DE MENEZES SOUSA ZAGO

USO DE ENZIMAS COMO BIOINDICADORES  
EM SOLOS COM DIFERENTES CULTURAS NO  
CERRADO GOIANO

Dissertação defendida no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos  
Naturais do Cerrado da Universidade Estadual de Goiás,  
para a obtenção do grau de Mestre, aprovada em 26 de janeiro de 2016, pela  
Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

  
**Prof. Dr. Samantha Salomão Caramori**  
Presidente da Banca  
Universidade Estadual de Goiás

  
**Prof. Dr. Joyce Rover Rosa**  
Membro externo  
Universidade Estadual de Goiás

  
**Prof. Dr. Flavio Marques Lopes**  
Membro interno  
Universidade Federal de Goiás

Dedico essa dissertação aos meus pais, às  
minhas irmãs e ao meu esposo que foram  
companheiros, me apoiaram e me  
incentivaram.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder o dom da vida, a saúde, a coragem, a sabedoria e discernimento necessários para concluir mais essa etapa de minha vida profissional.

À minha orientadora Dra. Samantha Salomão Caramori, por me aceitar como orientanda e me instruir de maneira tão sábia. Pelo tempo a mim dedicado, os ensinamentos e a paciência. Pelo exemplo de pessoa e profissional. Pela amizade, conselhos e o acolhimento em seu lar.

Aos meus pais e minhas irmãs, pelo amor incondicional, pelo carinho, pela preocupação e pelo incentivo constante.

Ao meu esposo, pelo amor, paciência, companheirismo e compreensão. Por estar sempre ao meu lado me incentivando e me motivando. Por me acalmar e me encorajar nos momentos mais difíceis.

À Anne Kethlen, Letícia Mikaelly e Erick Melo pelo conhecimento a mim transmitido.

À Andreza e Douglas, pelo apoio na realização de parte dos experimentos. Pela oportunidade de trabalhar juntos, trocando experiências e conhecimento.

À minha colega de mestrado, Nayara, pela construção dos mapas de localização das áreas de coleta.

À professora Solange, pela concessão de materiais necessários para a realização de parte dos experimentos.

A todos os proprietários rurais e Usinas de Açúcar e Álcool, por me conceder o material de estudo.

Ao Professor Davi Lopes Pereira, diretor da UEG Câmpus Itumbiara, por me conceder o Laboratório de Biologia para realização de parte dos experimentos e transporte para realização de parte das coletas.

Aos professores do RENAC, pelo conhecimento transmitido nas disciplinas do programa.

À FAPEG pelo apoio financeiro concedido para minha formação.

Aos meus amigos e companheiros de trabalho Valdirene, Anna Paula, Maria Madalena e Joyce pelo apoio e companheirismo. À Maria Madalena e Joyce pelas instruções e ensinamentos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho os meus agradecimentos. Muito obrigada!

“O solo não é uma herança que recebemos de  
nossos pais, mas sim um patrimônio que  
tomamos emprestado de nossos filhos”  
Lester Brown

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>10</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....</b>	<b>11</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Objetivo geral.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>19</b>
<b>3 ARTIGO.....</b>	<b>20</b>
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>69</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>70</b>
<b>APÊNCIDES.....</b>	<b>78</b>

## RESUMO

O Cerrado brasileiro abrange cerca de dois milhões de quilômetros quadrados com área de baixa declividade e solos bem drenados, representando um grande atrativo para a agricultura mecanizada. A produção de cana-de-açúcar, soja e milho no estado de Goiás tem demandado a substituição de áreas de Cerrado em ecossistemas agrícolas. Apesar das vantagens financeiras, o uso e manejo do solo acarretam modificações em atributos físicos, químicos, biológicos e bioquímicos do solo e conseqüentemente na sua dinâmica de funcionamento que é dependente de processos de transformação da matéria orgânica mediados por microrganismos e enzimas extracelulares. No presente estudo buscou-se compreender a influência de culturas agrícolas anuais e perenes sobre a atividade de enzimas que participam do ciclo do carbono, nitrogênio e fósforo e propor a utilização de enzimas hidrolases como bioindicadores de qualidade do solo. Amostras de solo de Cerrado nativo e sob cultivo de soja, milho e cana-de-açúcar foram coletadas na profundidade de 0-10 cm, durante os períodos de chuva e seca, em seis pontos no estado de Goiás. Foram avaliados os teores de macronutrientes, matéria orgânica, carbono orgânico total, nitrogênio total e carbono da biomassa microbiana, assim como a atividade de  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidases, fosfatase ácida, glicina aminopeptidase e protease. Os dados foram analisados por ANOVA Two-way e MANOVA One-way e as médias comparadas pelo teste de Tukey e  $T^2$  de Hotteling, respectivamente, considerando  $p < 0,05$ . As relações entre as propriedades químicas e bioquímicas foram determinadas pela análise de Correlação de Pearson. O teor de nutrientes não se diferiu entre os diferentes tipos de uso do solo. Entretanto, os teores de matéria orgânica, carbono orgânico total, nitrogênio total e carbono da biomassa microbiana encontraram-se em menor proporção em ecossistemas agrícolas de monoculturas, evidenciando o efeito negativo do uso do solo para a qualidade desse ecossistema. A atividade de  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidade foi menor apenas em solos com cultivo de cana-de-açúcar em relação às culturas anuais e Cerrado nativo, o que demonstra um efeito positivo das técnicas de plantio direto e rotação de culturas nas espécies de ciclo anual. A atividade de fosfatase ácida foi menor nas áreas de cultivo onde houve adição de adubo fosfatado. Aminopeptidase e protease foram influenciadas pela qualidade dos resíduos proteicos presentes no solo, sendo que a atividade de aminopeptidase foi maior em solos de cerrado nativo, enquanto protease foi menor nesse ecossistema. Embora a substituição de vegetação nativa ocasione perda de biodiversidade e redução da atividade bioquímica no solo, a implantação de culturas anuais provocou menor impacto ao ecossistema, já que as práticas de manejo estimulam a atividade microbiana no solo, o que não foi observado em relação às monoculturas. Mesmo assim, quando os dados foram analisados em conjunto foi possível observar que as alterações na cobertura vegetal e nos sistemas de manejo afetaram a atividade biológica no solo. Desse modo, as variações encontradas na atividade de hidrolases confirmaram que essas enzimas são sensíveis a variações decorrentes de práticas de gestão e uso do solo e portanto podem ser usadas como bioindicadores de qualidade do solo.

Palavras-chave: Hidrolases; Qualidade do solo; Bioindicadores.



## ABSTRACT

The Brazilian Cerrado covers about two million square kilometers with an area of low slope and well-drained soils, representing an attractive place for mechanized agriculture. The production of sugarcane, soybeans and corn in the state of Goiás have demanded the replacement of Cerrado areas in agricultural ecosystems. Despite the financial benefits, the use and soil management input changes in physical, chemical, biological and biochemical soil properties and consequently in its functional dynamic. That is on dependence of the transformation of organic matter mediated by microorganisms and extracellular enzymes. In the present study, we tried to understand the influence of annual and perennial crops on the activity of enzymes that participate in the carbon cycle, nitrogen and phosphorus and propose the use of hydrolases as soil quality bioindicators. Cerrado native soil samples and in soy, corn and sugarcane were collected at a depth of 0-10 cm during periods of rain and drought in six points in the state of Goiás. We evaluated the levels of macronutrients, organic matter, total organic carbon, total nitrogen and carbon of microbial biomass, as well as the activity of  $\alpha$  and  $\beta$ -glycosidases, acid phosphatase, protease and glycine aminopeptidase. Data were analyzed by ANOVA Two-way and MANOVA One-way and the means were compared by Tukey test and test  $T^2$  Hotteling, respectively, considering  $p < 0.05$ . The relationship between the chemical and biochemical properties was determined by Pearson correlation analysis. The nutrient content did not differ among the different types of land use. However, the organic matter content, total organic carbon, total nitrogen and microbial biomass carbon found in smaller proportion in agricultural ecosystems to monocultures, reflected the negative effect of land use on the quality of this ecosystem. The  $\alpha$  and  $\beta$ -glucosidase activities were lower only in soils with sugarcane cultivation in relation to the annual crops and native Cerrado, which show a positive effect of tillage techniques and crop rotation on the species of the annual cycle. Acid phosphatase activity was lower in the cultivated areas where there were added phosphate fertilizers. Aminopeptidase and protease were influenced by the quality of the protein residues present in the soil, and the aminopeptidase activity was higher in native Cerrado native soils, while protease was less in this ecosystem. Although the replacement of vegetation causes a loss of biodiversity and reduction of biochemical activity in the soil, the establishment of annual crops caused less impact on the ecosystem, since management practices stimulate microbial activity in the soil, which was not observed in relation to monocultures. Still, when all data were analyzed together it was possible to observe that the changes in vegetation cover and the management systems affected the biological activity in the soil. Thus, the variations found in hydrolase activities confirmed that these enzymes are sensitive to changes arising from land management and use practices and therefore can be used as soil quality bioindicators.

Keywords: Hydrolases; Soil quality; Bioindicators.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Atividade de  $\alpha$ -glicosidase em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , ANOVA e teste de Tukey).....39
- Figura 2.** Atividade de  $\beta$ -glicosidase em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , ANOVA e teste de Tukey).....39
- Figura 3.** Atividade de fosfatase ácida em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , ANOVA e teste de Tukey).....41
- Figura 4.** Atividade de glicina aminopeptidase em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , ANOVA e teste de Tukey).....43
- Figura 5.** Atividade de protease em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , ANOVA e teste de Tukey).....44
- Figura 6.** Atividade enzimática total em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , MANOVA e teste de  $T^2$  Hotteling).....46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Temperatura, precipitação média anual (últimos 15 anos) e localização geográfica dos pontos de amostragem.....26

Tabela 2: Características químicas e C da Biomassa microbiana das amostras de solos coletados em Cerrado nativo e culturas de cana, soja e milho (profundidade 0-10 cm), no estado de Goiás, Brasil, durante o verão e inverno.....34

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

C <sub>mic</sub>	Carbono da Biomassa Microbiana
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
COT	Carbono orgânico total
IQS	Indicadores de Qualidade do Solo
Kc	Fator de conversão
MO	Matéria orgânica
NPK	Nitrogênio, fósforo e potássio
NT	Nitrogênio total
pNA	<i>p</i> -nitroanilida
pNP	<i>p</i> -nitrofenol
QS	Qualidade do solo
TCA	Ácido tricloroacético

## 1 INTRODUÇÃO

O solo é um recurso natural essencial para a sobrevivência das espécies, pois provê diferentes serviços ecossistêmicos, tais como a produção de alimentos e fibras, que são importantes para a manutenção da vida (Wallace, 2007). É responsável por armazenar e liberar água, decompor resíduos orgânicos, participar da ciclagem de nutrientes servir como habitat de microrganismos e promover o crescimento das plantas (Coelho et al., 2013).

Os solos do Cerrado do estado de Goiás são, em parte, utilizados para fins agrícolas. As culturas de cana-de-açúcar, soja e milho desempenham papel fundamental na dinâmica de substituição da vegetação nativa e ocupação dos solos. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2015a,b), as últimas safras têm sido acompanhadas da expansão das áreas de plantio. No ano de 2015, 4,233 mil hectares de terra foram utilizados para produção de cana e soja (908 mil e 3,325 mil hectares, respectivamente) e cerca de 1.112,3 mil hectares para a produção de milho. Devido ao aumento na demanda de alimentos e combustíveis, a tendência é ampliar ainda mais as áreas de plantio nos próximos 10 anos (MAPA, 2015).

Esses dados reafirmam a necessidade de produção vinculada a uma manutenção das condições ambientais. Por ser uma atividade extremamente dependente de recursos naturais e no ambiente natural não existir agrossistemas, a conversão de terras e a intensificação na produção de culturas agrícolas resultam em desequilíbrio ambiental (Matson et al., 1997; Antoniazzi, 2008) e a conversão de áreas de Cerrado nativo, assim como a exploração do solo para fins agrícolas tem contribuído para a degradação no solo (Oldeman, 1994; Doran e Zeiss, 2000). O manejo inadequado ocasiona perda de matéria orgânica, compactação e erosão (Araújo e Monteiro, 2007) e a utilização de produtos químicos pode resultar em alterações na composição química e biológica, interferindo nos processos bioquímicos do solo (Matsuoka et al., 2003; D'Andrea et al., 2002, 2004; Carneiro et al., 2009; Maia et al., 2010). Dessa forma, um dos desafios da agricultura é conseguir atender a demanda de alimentos e produção de combustíveis, que é cada vez maior, e simultaneamente preservar os recursos naturais (Godfray, 2010).

O funcionamento do solo está diretamente relacionado com a sua composição e a interação entre seus componentes bióticos e abióticos (Siqueira et al., 1994). Assim, qualquer alteração que promova o desequilíbrio na sua estrutura e atividade biológica do solo pode

gerar infertilidade (Brookes, 1995) e conseqüentemente representar riscos para a produção agrícola futura.

Para que a produtividade agrícola seja garantida é necessário manter a qualidade do solo (QS), ou seja, é necessário que o mesmo apresente a capacidade de funcionar dentro dos limites do ecossistema manejado. Isto significa que o solo deve apresentar boa capacidade de mineralizar a matéria orgânica e degradar compostos vegetais, animais e materiais, além de manter a qualidade ambiental (Karlen et al., 1997; Doran, 2002).

Desse modo, analisar a QS é importante para diagnosticar os impactos provenientes das práticas agrícolas e acompanhar as mudanças provenientes do seu uso ao longo do tempo (Braimoh e Vlek, 2008; Rosa e Sobral, 2008). Além disto, esta análise é útil para orientar a gestão e a tomada de decisões para uma agricultura mais sustentável (Karlen et al., 2008).

Para avaliar a QS é preciso estabelecer um conjunto mínimo de dados que possam fornecer informações necessárias para a compreensão das condições do solo (USDA, 2001; Burns et al., 2006). Diferentes propriedades devem ser selecionadas, medidas e interpretadas levando em consideração os diferentes usos e particularidades do solo. Um bom indicador de QS deve ser sensível a variações no uso do solo, estar relacionado com as funções do solo, ser capaz de elucidar processos do ecossistema, ser compreensível e útil para os agricultores e ser fácil e barato de mensurar (Benedetti e Dilly, 2006). Assim sendo, a avaliação deve ser realizada de modo sistemático para identificar as propriedades que possam ser utilizadas como indicadores de funcionalidade do solo (Tótola e Chaer, 2002).

Os indicadores de qualidade do solo (IQS) são atributos/propriedades que medem ou refletem o status ambiental ou a condição de sustentabilidade do ecossistema (Araújo e Monteiro, 2007). Quando analisados em conjunto, podem refletir os impactos e as alterações provocadas pelo uso do solo (Alvarenga e Sousa, 1998; USDA, 2001). Os IQS abrangem propriedades físicas, químicas, biológicas, processos, características ou condições do solo (USDA, 2001; Tótola e Chaer, 2002; Moreira e Siqueira, 2006; Burns et al., 2006) e são comumente reportados como indicadores físicos, químicos, biológicos e bioindicadores de QS.

Os indicadores físicos são propriedades físicas como textura, estrutura, densidade, umidade, porosidade, permeabilidade e estabilidade dos agregados que podem fornecer informações acerca da capacidade de aeração, entrada e retenção de água e aspectos erosivos (Alvarenga e Sousa, 1998; Ferreira e Dias Júnior, 2001; Gomes e Filizola, 2006; USDA, 2008). Além desses parâmetros, a avaliação da QS é realizada também com base em

propriedades químicas do solo, as quais afetam reações e processos que ocorrem nesse ecossistema e portanto são sensíveis ao manejo do solo (Azevedo e Dalmolin, 2006; USDA, 2015). Os indicadores químicos mais comumente utilizados na avaliação da QS são: a capacidade de troca catiônica, pH, teor de nutrientes, tais como: fósforo, potássio, cálcio e magnésio (USDA, 2001). Estes fornecem informações sobre a disponibilidade e a capacidade de retenção de nutrientes no solo e a sua disponibilidade para plantas (NRCS, 2011a).

Ademais, a matéria orgânica também deve ser avaliada, pois além de ser fonte de nutrientes para plantas e influenciar todas as funções desempenhadas pelo solo, é sensível a modificações ocasionadas pelo manejo do solo (Gregorich et al., 1994; NRCS, 2011b; USDA, 2015). O teor de carbono e nitrogênio são os principais componentes da matéria orgânica e constituem parâmetros que variam de acordo com a adição e perda de resíduos vegetais e/ou animais (Bayer e Mielniczuk, 1997) e por isto esses elementos apresentam também estreita relação com a QS (Gregorich et al., 1994). O desmatamento e o uso do solo para implantação de lavouras convencionais podem causar reduções na quantidade de matéria orgânica e afetar a atividade biológica do solo (Miralles et al., 2012).

As propriedades biológicas e bioquímicas do solo são comumente reportados como bioindicadores e podem ser um ou vários organismos, parte de um organismo, produto de um organismo ou processos biológicos que podem ser usados para obter informações do ambiente (Fernández et al., 2008; Nannipieri et al., 2012; Cardoso et al., 2013).

A biomassa microbiana é parte viva da matéria orgânica do solo, sendo constituída por fungos, bactérias, protozoários e algas. Os processos biológicos e bioquímicos realizados pelos microrganismos presentes no solo são ecologicamente importantes e necessariamente relevantes para a produção agrícola e sustentabilidade dos ecossistemas (Siqueira et al., 1994). Os microrganismos estão envolvidos na estruturação do solo, degradação de poluentes e solubilização de nutrientes como o fosfato. Além disso participam de processos de decomposição de resíduos e ciclagem de nutrientes, regulando a troca de nutrientes entre a atmosfera e o ecossistema solo-planta-organismos. A biomassa microbiana atua como fonte e dreno de carbono por meio da imobilização e mineralização da matéria orgânica, sendo um componente relevante para a qualidade do solo (Moreira e Siqueira, 2006). Dessa forma, os microrganismos estão intimamente relacionados ao funcionamento do solo e apresentam uma estreita relação com os componentes físicos e químicos do solo (Mendes e Vivaldi, 2001).

Apesar de representar uma pequena fração do carbono orgânico do solo, a biomassa microbiana é sensível a variações nas propriedades físicas e químicas, tais como pH,

temperatura, umidade, aeração, nutrientes, carbono orgânico e disponibilidade de substratos. É também fortemente influenciada pelo manejo, uso e cobertura do solo (Siqueira et al., 1994). Alguns autores relatam que o carbono da biomassa microbiana é um indicador que responde mais rapidamente às alterações no ambiente do que as propriedades físicas e químicas (Nogueira et al., 2006; Franchini et al., 2007; Hungria et al., 2009), pois reflete mudanças nas propriedades orgânicas do solo e alterações provenientes de práticas de cultivo agrícola (Reis Júnior e Mendes, 2007). Moreira e Siqueira (2006) defendem a hipótese de que esta seja uma das propriedades biológicas mais relevantes, pois os microrganismos atuam como agentes de transformação bioquímica e são fundamentais nos processos de transferência de carbono, energia e nutrientes no sistema solo-planta-atmosfera (Siqueira, 1994). Por isso a biomassa microbiana tem sido considerada por muitos autores como um componente importante no monitoramento da QS (Knoepp et al., 2000; Killham e Staddon, 2002; Schloter et al., 2003; Matsuoka et al., 2003; Santos et al., 2004; Nogueira et al., 2006; Reis Júnior e Mendes, 2007; Mendes et al., 2009; Cardoso et al., 2013).

Outro indicador importante na avaliação da qualidade do solo são as enzimas extracelulares (Tabatabai, 1994; Taylor et al., 2002; Moreira e Siqueira, 2006). As enzimas de solo estão relacionadas com a comunidade microbiana que é sua maior produtora, embora possam ser oriundas de vegetais e animais (Tabatabai, 1994). Elas são essenciais para o funcionamento do solo, visto que todas as reações bioquímicas que ocorrem no solo dependem da presença de enzimas (Schmitz, 2003; Fernández et al., 2008) e permitem que compostos orgânicos sejam convertidos, o que possibilita o acesso da microbiota a nutrientes presentes na matéria orgânica (Doran e Parkin, 1994; Dick et al., 1996; Grant et al., 2001). As enzimas de solo são responsáveis pela catálise de reações bioquímicas que resultam na decomposição de compostos orgânicos. É por meio das reações catalisadas por diferentes enzimas que vários nutrientes são disponibilizados no solo, beneficiando plantas e microrganismos (Caldwell, 2005; Moreira e Siqueira, 2006; Araújo e Monteiro, 2007).

Dentre as enzimas utilizadas para avaliar a qualidade do solo, destacam-se as hidrolases que participam dos ciclos do carbono, fósforo e nitrogênio. As enzimas  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidase (E.C. 3.2.1.20; E.C. 3.2.1.21, respectivamente) participam do ciclo do carbono hidrolisando ligações glicosídicas de compostos orgânicos presentes no solo. A enzima  $\alpha$ -glicosidase age sobre ligações  $\alpha$ -1,4 de sacarídeos curtos presentes no amido e outros carboidratos e libera glicose como produto final. Por outro lado, a  $\beta$ -glicosidase participa da etapa final de conversão de celulose em glicose. Esta enzima cliva ligações presentes na



molécula de celobiose, que por sua vez é produto da ação de outras enzimas que atuam na molécula de celulose (Vihinen e Mäntsälä, 1989; Esen, 1993; Okuyama et al., 2001).

As glicosidases são enzimas sensíveis ao manejo do solo (Doran e Parkin, 1994; Gil-Sotres, 2005; Tian et al., 2010; Almeida et al., 2015), pois em solos degradados há menor quantidade de compostos ricos em açúcares simples, o que restringe a ação da microbiota, reduzindo assim a atividade enzimática (Stott et al., 2010). A relação entre a atividade dessas enzimas e a matéria orgânica do solo, carbono orgânico total e biomassa microbiana foi evidenciada nos estudos de Eivazi e Tabatabai (1988). Štursová e Baldrian (2011) e Wallenius et al. (2011) identificaram a matéria orgânica do solo como sendo o fator mais relevante para a atividade dessas enzimas.

As fosfatases (E.C 3.1.3.2) são um grupo de enzimas que possuem a capacidade de catalisar a hidrólise de ésteres e anidridos do ácido fosfórico com posterior liberação de fosfato inorgânico (Tabatabai, 1994) e têm sido amplamente avaliadas perante o uso do solo (Trasar-Cepeda, 2008; Jakelaitis et al., 2008; Carneiro et al., 2009; Štursová e Baldrian, 2011; Zhang et al., 2015). Estas enzimas constituem a principal fonte mineralizadora de fosfato e desempenham papel fundamental, pois disponibilizam para as plantas o fósforo na forma inorgânica, que é um elemento fundamental para o metabolismo celular e crescimento dos vegetais (Grant et al., 2001; Moreira e Siqueira, 2006; Santos et al., 2008).

A atividade de fosfatase é regulada pela disponibilidade de fosfato inorgânico no solo, que interfere na expressão de proteínas e reguladores que controlam a produção dessa enzima. Isto significa que quando a quantidade de fosfato inorgânico é elevada no solo, a tendência é que a atividade de fosfatase seja reduzida, situação que ocorre geralmente em solos que recebem adubos fosfatados (Nahas, 1989; Allison et al., 2007; Peixoto, 2010; Geisseler e Scow, 2014).

As proteases (3.4.2.21-24) e aminopeptidases (EC 3.4.11) encontradas no solo atuam na despolimerização de macromoléculas orgânicas. Estas atuam sobre moléculas proteicas, hidrolisando extremidades C e N-terminais, liberando polipeptídios menores ou aminoácidos que servirão como fonte de nutrientes para plantas e demais organismos no solo (Barret et al., 2001). As proteases podem ser influenciadas por diversos fatores, como a textura, porosidade e composição mineral, tipo de solo, pH, umidade, composição dos substratos e também é sensível a gestão do solo e cobertura vegetal (Allison et al., 2006; Vranova et al., 2013; Turner et al., 2014). Fatores como condições climáticas, textura e composição do solo podem

afetar a atividade dessa enzima. De acordo com Kandeler et al. (1999) a adição de matéria orgânica confere valores mais elevados na atividade de proteases.

Dentro desse contexto, é notável que a funcionalidade do solo possui estreita relação com a atividade biológica e bioquímica. Modificações no ecossistema podem interferir na ciclagem de nutrientes e conseqüentemente no desenvolvimento de plantas que dependem desses processos (Dick et al., 1996; Grant et al., 2001).

As enzimas expressam alterações ambientais decorrentes da gestão do solo e revelam diferentes aspectos da QS (Turco, Kennedy e Jawson, 1994; Nannipieri et al. 2012), portanto podem ser utilizadas para verificar alterações ambientais ocasionadas por ocupação agrícola e constituem importantes ferramentas para avaliar as práticas de manejo utilizadas por agricultores (Doran e Parkin, 1994; Acosta-Martínez et al., 2014). Além de ser útil para indicar o potencial de funcionalidade do solo (Tabatabai, 1994), o custo para medir a atividade enzimática é reduzido em relação a outras análises bioquímicas e os resultados podem ser correlacionados com outros atributos físicos, químicos e biológicos (Trasar-Cepeda et al., 2000; Ndiaye et al., 2000; Alkorta et al., 2003).

Diante do cenário de expansão agrícola e intensa exploração do Cerrado, há atualmente a preocupação com questões ambientais. A escassez de informações sobre a biologia dos solos do Cerrado, aliada às necessidades de implantação de um modelo agrícola sustentável, culminaram em estudos sobre as propriedades do solo de vegetação nativa e solos agrícolas, afim de se entender o funcionamento biológico desse ambiente e detectar alterações que possam indicar perda da qualidade dos solos (Matsuoka et al., 2003; Mendes et al., 2003; Matsuoka, 2006; Reis Júnior e Mendes, 2007; Silva et al., 2012; Lacerda et al., 2013).

O monitoramento dos processos que interferem no solo é crucial para entender quais são os efeitos da exploração agrícola prolongada sobre o mesmo. Para isto é necessário avaliar características presentes no ecossistema solo que indiquem o seu estado de conservação e/ou degradação. Em um contexto geral, pode-se atribuir a importância desse estudo à necessidade de avaliar os impactos causados pela substituição da vegetação nativa por sistemas agrícolas. Analisar como as diferentes características do solo se comportam sob condições de exploração poderá contribuir para a elaboração de um método de avaliação de qualidade dos solos baseado no monitoramento de diferentes enzimas, assim como na tomada de decisões.

Diante desse contexto, o presente estudo se justificou sob a hipótese de que a implantação de culturas agrícolas de cana-de-açúcar, soja e milho acarretam mudanças em atributos químicos como matéria orgânica, carbono orgânico total, além de atributos

biológicos e bioquímicos como o carbono da biomassa microbiana e a atividade das enzimas  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida, protease e glicina aminopeptidase. Espera-se que o tipo de cultivo implantado, assim como o tipo de manejo utilizado no solo exerçam influência sobre os processos bioquímicos relacionados ao ciclo do carbono, fósforo e nitrogênio e dessa forma interfiram na qualidade do solo. Era esperado também que a atividade enzimática pudesse indicar de forma precoce as alterações ocasionadas pelo uso do solo e portanto poderia ser usado como indicador de qualidade dos solos analisados.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar indicadores químicos e bioindicadores de qualidade em solos do Cerrado do sul de Goiás sob cultivo anual de soja e milho e cultivo perene de cana-de-açúcar.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Analisar a composição química de solos de Cerrado nativo e solos cultivados com soja, milho e cana-de-açúcar;
- Monitorar a atividade das enzimas  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida, glicina aminopeptidase e protease em diferentes tipos de uso de solo e em diferentes períodos do ano;
- Comparar os valores de atividade enzimática e biomassa microbiana dos solos cultivados, utilizando o Cerrado Nativo como referência;
- Verificar a influência do tipo de cobertura vegetal presente e sazonalidade sobre as propriedades químicas, biológicas e bioquímicas do solo;
- Correlacionar a atividade das enzimas  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida, glicina aminopeptidase e protease com propriedades químicas, biológicas e bioquímicas do solo;
- Propor a utilização de enzimas hidrolases como indicadores biológicos de qualidade do solo do Cerrado.

### 3 ARTIGO

Artigo a ser submetido a Applied Soil Ecology

A atividade bioquímica do solo de Cerrado é diferencialmente afetada pelas culturas de cana-de-açúcar, soja e milho.

Leciana de Menezes Sousa Zago <sup>a,b\*</sup>, Andreza Karlla Moreira de Oliveira <sup>a</sup>, Douglas Ferreira Rodrigues <sup>a</sup>, Samantha Salomão Caramori <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Estadual de Goiás, Laboratório de Biotecnologia, Anápolis, Goiás, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Estadual de Goiás, Laboratório de Biologia, Itumbiara, Goiás, Brasil

Corresponding author: [lecianazago@hotmail.com](mailto:lecianazago@hotmail.com)

## DESTAQUES

- Alterações na cobertura vegetal e nos sistemas de manejo afetaram a atividade biológica e bioquímica do solo.
- Monocultura de cana-de-açúcar reduz a qualidade de solos de Cerrado.
- Hidrolases são indicadores de alterações nos padrões biológicos de solo de Cerrado.

**RESUMO:** O Cerrado brasileiro abrange cerca de dois milhões de quilômetros quadrados com área de baixa declividade e solos bem drenados, representando um grande atrativo para a agricultura mecanizada. A produção de cana-de-açúcar, milho e soja em solos de Cerrado atingem o primeiro lugar no Brasil. A expansão agrícola no Cerrado vai demandar nos próximos anos a ocupação de novas áreas do bioma com consequências negativas para a biodiversidade. No presente estudo buscou-se verificar a influência de culturas agrícolas perenes e anuais sobre a atividade de enzimas que participam do ciclo do carbono, nitrogênio e fósforo e propor a utilização de hidrolases como bioindicadores de qualidade do solo. Amostras de solo de Cerrado nativo e sob cultivo de soja, milho e cana-de-açúcar foram coletadas na profundidade de 0-10 cm em seis localidades, durante os períodos de chuva e seca. Foram avaliados os teores de macronutrientes, matéria orgânica, carbono orgânico total, carbono da biomassa microbiana, assim como a atividade de  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidases, fosfatase ácida, glicina aminopeptidase e protease. Os dados foram analisados por ANOVA Two-way e MANOVA One-way e as médias comparadas pelo teste de Tukey e  $T^2$  de Hotteling, respectivamente, considerando  $p < 0,05$ . As relações entre as propriedades químicas e bioquímicas foram

determinadas pela análise de Correlação de Pearson. O teor de nutrientes não se diferiu entre as diferentes classes de uso do solo. Entretanto, os teores de matéria orgânica, carbono orgânico total, nitrogênio total e carbono da biomassa microbiana encontraram-se em menor proporção em ecossistemas agrícolas de monoculturas, evidenciando o efeito negativo do uso do solo para a qualidade desse ecossistema. A atividade de  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidade foi menor apenas em solos com cultivo de cana-de-açúcar em relação às culturas anuais e Cerrado nativo, o que demonstra um efeito positivo das técnicas de plantio direto e rotação de culturas nas espécies de ciclo anual. A atividade de fosfatase ácida foi menor nas áreas de cultivo onde houve adição de adubo fosfatado. Aminopeptidase e protease foram influenciadas pela qualidade dos resíduos proteicos presentes no solo, sendo que a atividade de aminopeptidase foi maior em solos de cerrado nativo, enquanto protease foi menor nesse mesmo ecossistema. Embora a substituição de vegetação nativa ocasione perda de biodiversidade e redução da atividade bioquímica no solo, a implantação de culturas anuais provocou menor impacto ao ecossistema, já que as práticas de manejo estimulam a atividade microbiana no solo, o que não foi observado em relação às monoculturas. Mesmo assim, quando os dados foram analisados em conjunto foi possível observar que as alterações na cobertura vegetal e nos sistemas de manejo afetaram a atividade biológica no solo. Desse modo, as variações encontradas na atividade de hidrolases demonstram que essas enzimas são sensíveis a variações decorrentes de práticas de gestão e uso do solo e portanto podem ser usadas como bioindicadores de qualidade desses ecossistemas.

Palavras-chave: Hidrolases; Qualidade do solo; Bioindicadores; Cerrado; Biomassa microbiana; culturas agrícolas.

## 1. Introdução

As últimas décadas têm sido marcadas pela expansão e intensificação da agricultura em áreas de Cerrado (bioma constituído de formações vegetais savânicas, florestais e campestres). De acordo com Sano et al. (2010) a vegetação nativa de Cerrado sofreu 39,5% de perda devido ao agronegócio e a tendência é que nos próximos anos novas áreas sejam desmatadas para implantação de lavouras (MAPA, 2015). Embora este fato seja importante para a produção de alimentos, fibras e combustíveis, a utilização do solo para fins agrícolas pode provocar danos à saúde desse ecossistema (Oldeman, 1994).

De modo geral, as mudanças no armazenamento de carbono no solo em decorrência da utilização antrópica alteram a qualidade e quantidade de matéria orgânica do solo, afetando propriedades físicas e químicas, que por sua vez impactam diretamente os microrganismos e processos microbianos. Como consequência disto, a ciclagem e disponibilidade de nutrientes é perturbada e a sustentabilidade do ecossistema é comprometida (Bayer e Mielniczuk, 2008; Cardoso et al., 2013).

Especificamente, a retirada da vegetação nativa deixa o solo exposto, ocasionando o aumento da temperatura do solo e redução na entrada e diversidade de matéria orgânica (Badiane et al., 2001; Brussaard et al., 2004; Munkholm et al., 2013). As técnicas de gestão modificam a estrutura física do solo, afetam a agregação de partículas e alteram a sua composição química (Castro Filho et al., 1998; Carvalho et al., 2007; Ralisch et al., 2010). As práticas agrícolas reduzem de maneira significativa a quantidade de matéria orgânica, que é a principal fonte de nutrientes para o crescimento microbiano (Nogueira et al., 2006). Além disso, a comunidade e os processos microbianos são também negativamente afetados,



comprometendo a ciclagem de compostos como carbono, nitrogênio e fósforo (Green et al., 2007; Grandy et al., 2009; Frazão et al., 2010).

Considerando que o funcionamento do solo depende da interação entre fatores bióticos e abióticos, tais modificações geram desequilíbrio nas funções e comprometem a sustentabilidade desse ecossistema (Lacerda et al., 2013), o que pode representar riscos a produção agrícola futura. Entretanto, esses problemas podem ser minimizados por meio do monitoramento da qualidade do solo e escolha de práticas de gestão mais sustentáveis (Carvalho et al., 2007).

A avaliação da qualidade do solo é realizada por meio de diferentes propriedades físicas, químicas, biológicas e bioquímicas que são peças-chave para processos de ciclagem de nutrientes. Além disso são sensíveis o suficiente para refletir a influência da gestão e a condição atual de funcionamento do solo (Doran e Parkin, 1994; Doran e Zeiss, 2000; Benedetti e Dilly, 2006). Tais propriedades são usadas para indicar alterações na qualidade do solo sob diferentes tipos de manejo e cobertura vegetal (Franchini et al., 2007, Babujia et al. de 2010; Balota e Auler, 2011).

A matéria orgânica tem sido sugerida como um indicador de qualidade do solo, por moldar a estrutura física e processos hidrológicos do solo e servir como fonte de nutrientes para plantas (Doran e Parkin, 1994; Mielniczuk, 1999; Cardoso et al., 2013). As alterações na matéria orgânica do solo decorrentes de seu uso e manejo afetam propriedades físicas, químicas e biológicas e exercem influência sobre a capacidade produtiva do solo (Bayer et al., 2000; Liu et al., 2003; Khorramdel et al., 2013).

Dessa forma, a avaliação da biomassa microbiana e atividade enzimática do solo são importantes na aquisição de conhecimento acerca das mudanças nas suas

propriedades orgânicas e alterações provenientes de práticas de cultivo agrícola (Nannipieri et al., 2002; Reis Júnior e Mendes, 2007). A biomassa microbiana imobiliza nutrientes como C, N e P que servem para suprir as necessidades de plantas e são produtoras de glomalina, uma glicoproteína que atua na formação de agregados e afeta a estabilidade do solo (Sicardi et al., 2004; Nayak et al., 2007; Wright et al., 2007; Bayer e Mielniczuk, 2008). Por isso as populações microbianas e enzimas estão sujeitas a alterações de acordo com o uso do solo e são consideradas por diversos autores como ferramentas importantes para a avaliação da qualidade do solo (Killham e Staddon, 2002; Nielsen e Winding, 2002; Matsuoka et al., 2003).

As entradas de matéria orgânica no solo se diferem na sua composição e a sua complexa decomposição depende da síntese e liberação de enzimas extracelulares por microrganismos diversos (Nannipieri et al., 2002). As enzimas extracelulares determinam a velocidade de decomposição, imobilização e mineralização da matéria orgânica, possibilitando o fluxo de nutrientes, a sobrevivência de espécies e o bom funcionamento do solo (Martens et al., 1992; Nannipieri et al., 2002; Nayak et al., 2007; Gessner et al., 2010).

Dentre as enzimas utilizadas para avaliar a qualidade do solo, destacam-se as hidrolases que participam dos ciclos do carbono, fósforo e nitrogênio. As enzimas  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidase (E.C. 3.2.1.20; E.C. 3.2.1.21, respectivamente) participam do ciclo do carbono hidrolisando ligações  $\alpha$ -1,4 de sacarídeos curtos presentes em carboidratos e ligações  $\beta$ -1,4 presentes em moléculas de celobiose (Vihinen e Mäntsälä, 1989; Esen, 1993; Okuyama et al., 2001). Por outro lado, as fosfatases (E.C 3.1.3.2) catalisam a hidrólise de ésteres e anidridos do ácido fosfórico com posterior liberação de fosfato inorgânico (Tabatabai, 1994), constituindo a principal

fonte mineralizadora de fosfato e por isso desempenham papel fundamental na disponibilização desse elemento para as plantas (Grant et al., 2001; Moreira e Siqueira, 2006; Santos et al., 2008). As proteases (3.4.2.21-24) e aminopeptidases (EC 3.4.11) atuam sobre moléculas proteicas, hidrolisando extremidades C e N-terminais, liberando polipeptídios menores ou aminoácidos que servirão como fonte de nutrientes para plantas e demais organismos no solo (Barret et al., 2001).

Considerando que o percentual de cobertura vegetal natural remanescente de Cerrado era de 47% em 2010 (Beuchle et al., 2015) e que a tendência é que novas áreas sejam desmatadas para a conversão em lavouras (MAPA, 2015) é importante compreender o impacto da retirada da vegetação nativa e implantação de lavouras sobre propriedades químicas e bioquímicas do solo. Com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes tipos de cobertura vegetal sobre indicadores de qualidade desse ecossistema, estabeleceu-se a hipótese de que a implantação de culturas agrícolas de cana-de-açúcar, soja e milho acarretam mudanças negativas nos teores de matéria orgânica e biomassa microbiana, bem como em processos bioquímicos relacionados com o ciclo do C, N e P. Outra hipótese deste trabalho é que a atividade de enzimas hidrolases é maior em áreas de culturas agrícolas que utilizam técnicas de plantio direto em relação ao plantio convencional, que deixa o solo exposto para a adição da nova cultura.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Descrição das áreas de amostragem**

O estudo foi conduzido em Usinas de Açúcar e Alcool e propriedades agrícolas particulares localizadas no estado de Goiás, região Centro-Oeste do Brasil

(Tabela 1). O clima da região é, segundo a classificação de Köppen, do tipo Aw, que corresponde ao clima Tropical chuvoso.

Os dados referentes a temperatura e precipitação de cada ponto de amostragem foram obtidos na plataforma LAPIG-Maps e estão descritos na Tabela 1. Os seis pontos de amostragem foram selecionados pois apresentavam os três tipos de culturas agrícolas que foram avaliadas, além de áreas de Cerrado nativo.

**Tabela 1:** Temperatura, precipitação média anual (últimos 15 anos) e localização geográfica dos pontos de amostragem.

Ponto de amostragem	T <sup>†</sup> (° C)	Precipitação (mm ano <sup>-1</sup> )	Tipo de uso do solo	Coordenada geográfica	
				Latitude	Longitude
Itumbiara (P1)	24,5	1119	Cana	18°23'28.9"	49°19'30.8"
			Soja	18°20'11.6"	49°06'56.9"
			Milho	18°20'42.4"	49°06'39.7"
			Cerrado	18°20'09.6"	49°06'55.6"
Goiatuba (P2)	23	1368	Cana	18°03'01.2"	49°37'33.0"
			Soja	18°01'33.5"	49°31'44.2"
			Milho	18°09'58.4"	49°16'50.8"
			Cerrado	18°05'32.8"	49°34'13.0"
Morrinhos (P3)	23,3	1346	Cana	17°53'15.8"	49°14'39.7"
			Soja	17°55'42.6"	49°10'42.2"
			Milho	17°55'20.6"	49°11'02.3"
			Cerrado	17°55'42.0"	49°09'58.8"
Edéia (P4)	24,1	1422	Cana	17°36'15.1"	50°06'17.2"
			Soja	17°23'07.4"	49°46'19.0"
			Milho	17°25'47.0"	49°54'09.7"
			Cerrado	17°45'20.6"	50°09'28.0"
Inhumas (P5)	23,1	1516	Cana	16°21'23.4"	49°26'56.0"
			Soja	16°16'15.4"	49°32'27.3"
			Milho	16°19'40.3"	49°27'56.9"
			Cerrado	16°15'39.2"	49°33'04.6"
Anicuns (P6)	23,6	1535	Cana	16°24'09.2"	49°52'06.8"
			Soja	16°20'04.4"	50°00'04.6"
			Milho	16°22'44.4"	49°57'54.4"
			Cerrado	16°25'09.5"	49°52'06.0"

<sup>†</sup> T: temperatura (Lapig-Maps, 2015; Climate-data, 2015)

Para a avaliação de características químicas e atividade biológica do solo, foram selecionados seis ecossistemas naturais e 18 agroecossistemas levando em consideração o tipo de cobertura vegetal e tempo de uso da terra superior a 10 anos. Em cada ponto de amostragem foram selecionadas as seguintes classes de uso do solo:

- Cerrado nativo: usado como referência, abrange áreas de vegetação característica do Bioma Cerrado, com predominância de mata mesófila. A distância média entre as áreas de cerrado nativo e as seis áreas de cana, soja e milho foram 12,3, 12,7 e 15,3 Km, respectivamente.
- Cultivo de cana-de-açúcar: esta cultura é considerada perene pois após o plantio, sofre cortes anualmente através de máquinas agrícolas, antes de ser novamente plantada. O solo é preparado por meio de técnicas de plantio convencional, utilizando arados aiveca e grades para revolvimento do solo. Sem exceção, todas as áreas receberam antes do plantio aproximadamente 350 Kg ha<sup>-1</sup> de fertilizante contendo nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) na composição. Em três dos seis pontos de coleta (P1, P3, P5) além desses adubos foram adicionados cerca de 40 L ha<sup>-1</sup> de vinhaça dois meses antes do plantio. A adubação de cobertura foi realizada seis meses após o plantio, usando aproximadamente 25 L ha<sup>-1</sup> de vinhaça nessas mesmas áreas. Em todos os locais realizou-se a adubação de cobertura com NPK (em média 300 Kg ha<sup>-1</sup>). Exceto em um dos locais (P6), a eliminação de pragas foi realizada utilizando herbicidas (Provence®, Combine®, Advance®, Ancosar 720® e/ou DMA 806®) em dosagem média de 1,2 L ha<sup>-1</sup>, fungicida (Glifosato®, em média 1,2 L ha<sup>-1</sup>) e/ou inseticidas (Regent® e/ou 800WG®, em média 0,03 L ha<sup>-1</sup>).

- Cultivo de soja: o plantio ocorre anualmente no inverno e a colheita é realizada cerca de três meses após o plantio. Técnicas de plantio direto (PD) são empregadas, mantendo os resíduos da colheita sobre o solo. Foi observada a predominância de culturas de soja no verão com a substituição por culturas de milho, sorgo e capim no inverno. Em algumas áreas, o solo recebeu tratamento com calcário e gesso e no momento do plantio foram inseridos no solo adubo mineral NPK (média de 380 Kg ha<sup>-1</sup>). A adubação de cobertura para a cultura de milho foi realizada com ureia ou sulfato de amônia na dosagem média de 200 Kg ha<sup>-1</sup>. Para o cultivo de sorgo aplicou-se NPK no momento do plantio (193 Kg ha<sup>-1</sup>) e para o cultivo de capim o solo não foi adubado e a plantação foi realizada por PD. Exceto na área cultivada com capim, o controle de pragas foi realizado com herbicidas em dosagem média de 0,8 L ha<sup>-1</sup> (Flumyzin®, Engeo®, Zapp® e/ou DMA 806®) e/ou fungicidas na dosagem média de 1,3 L ha<sup>-1</sup> (Mancozeb®, Nativo® e/ou Glifosato®) foram adicionados ao solo.
- Cultivo de milho: o plantio dessa cultura foi realizado entre outubro e novembro por PD e a colheita entre janeiro e fevereiro. A correção do pH do solo foi realizada apenas em P3, com a aplicação de calcário três meses antes do plantio. Todas as áreas foram adubadas com NPK (média de 210 Kg ha<sup>-1</sup>). Adicionalmente os solos receberam em média 220 kg de ureia como adubo de cobertura, 0,4 L ha<sup>-1</sup> de herbicidas (Engeo® e/ou Sanson 40S®) e 0,6 L ha<sup>-1</sup> de fungicida (Mancozeb® e/ou Nativo®).

## 2.2. Amostragem do solo

As amostras de solo foram obtidas no verão (dezembro /2014 e janeiro/2015) e no inverno (junho e julho/2015). Três subamostras foram coletadas em cada tipo de uso do solo (cana, soja, milho e cerrado nativo), nos seis pontos de amostragem, em dois períodos do ano (chuva e seca), na profundidade de 0-10 cm. As subamostras foram reunidas e formaram uma amostra composta. Os solos de cerrado nativo foram coletados em áreas adjacentes ou pelo menos próximas aos locais de plantio.

Os pontos de coleta foram delimitados em quadrados segundo metodologia de Babujia et al. (2010). Estas foram homogeneizadas e tamisadas (2mm) para a remoção de raízes, gravetos, pedras e cascalho e acondicionadas em sacos de polietileno a 4 °C. O teor de umidade do solo foi determinado após secagem de 5 g de solo, em estufa a 105 °C, por 48 h. A avaliação da atividade biológica do solo foi realizada até 15 dias após a coleta, utilizando como referência a massa seca do solo.

### **2.3. Análise química do solo**

As análises químicas dos solos foram realizadas, quinze dias após a coleta, por laboratório especializado. O teor de nutrientes ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  e P), matéria orgânica (MO), carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) foram estimados de acordo com a metodologia da Embrapa (1997).

### **2.4. Análise bioquímica do solo**

#### **2.4.1. Ensaio de atividade enzimática**

Foram avaliadas as atividades de cinco enzimas extracelulares envolvidas na ciclagem de carbono ( $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidase), nitrogênio (protease e aminopeptidase) e fósforo (fosfatase ácida), em solos sob cultivo perene e anual. O monitoramento da atividade enzimática foi realizado em triplicata e métodos colorimétricos, utilizando substratos específicos para cada enzima.

As atividades de  $\alpha$ -glicosidase (EC 3.2.1.20),  $\beta$ -glicosidase (EC 3.2.1.21) e fosfatase ácida (EC 3.1.3.2) foram determinadas conforme técnicas descritas por Baldrian et al. (2005). Os solos (0,05 g massa seca) foram incubados com substratos específicos (*p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-glicopiranosídeo, *p*-nitrofenil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo, *p*-nitrofenil-fosfato) a 40 °C por 1h. A quantidade de *p*-nitrofenol (pNP) liberada na reação foi determinada a 400nm após a adição de carbonato de sódio (0,5 mol L<sup>-1</sup>). O procedimento para a realização do controle diferiu-se apenas pela adição de tampão acetato de sódio (0,05 mol L<sup>-1</sup>; pH 5,0) em substituição ao substrato.

Para a determinação da atividade de glicina aminopeptidase (EC 3.4.11) foi utilizada a metodologia de Allisson e Vitousek (2005), com algumas modificações. Amostras de solo (0,1 g massa seca) foram incubadas a 37 °C por 1h, utilizando 900  $\mu$ L de *p*-nitroanilida (pNA) (0,005 mol L<sup>-1</sup>) preparada em tampão acetato (pH 5,0). A formação de glicina *p*-nitroanilina liberada na reação foi mensurada em espectrofotômetro a 405 nm. Para os controles o substrato foi substituído por tampão acetato de sódio (0,05 mol L<sup>-1</sup>; pH 5,0).

A atividade de protease (EC 3.4.2.21) foi avaliada pelo método de Ladeira et al. (2010), com algumas modificações. O solo (0,05g massa seca) foi combinado com 1 mL de azocaseína (0,2%) dissolvida em tampão Tris-HCl (0,2 mol L<sup>-1</sup>; pH 8,5) e a mistura foi incubada a 37 °C. A reação foi paralisada após 10 min pela adição de 0,5 mL de ácido tricloroacético 15% (TCA, p/v) e a mistura centrifugada por 5 min.



Ao sobrenadante foi adicionado 0,5 mL de solução de NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>) e a coloração desenvolvida foi medida a 420 nm. O controle diferiu-se pela adição de 5 mL de TCA antes do substrato.

A atividade enzimática, exceto da protease, foi determinada pela referência ao gráfico de calibração e expressa em micromol de produto formado por grama de solo seco por hora de reação ( $\mu\text{mol de produto g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). Atividade de protease foi expressa em unidade de enzima (U) por grama por hora de reação ( $\text{U g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), definida como a quantidade de enzima necessária para produzir um aumento na absorbância a 420 nm igual a 0,1 após 60 min de ensaio (Janssen et al., 1994).

#### **2.4.2. Atividade enzimática total**

A atividade enzimática total foi calculada para cada tipo de uso do solo. Foram utilizados os valores de atividade das enzimas relacionadas aos ciclos do carbono ( $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidase), fósforo (fosfatase ácida) e nitrogênio (glicina aminopeptidase). Os dados foram reunidos e os resultados foram obtidos pela somatória da atividade enzimática das quatro enzimas para cada tipo de uso do solo. Os valores de atividade de protease foram excluídos de tal análise por motivos de inviabilidade na conversão de medidas de expressão da atividade enzimática.

#### **2.4.3. Carbono da Biomassa Microbiana**

O carbono da biomassa microbiana ( $C_{\text{mic}}$ ) foi determinado por meio do método de irradiação-incubação (Ferreira et al., 1999). Três porções de 40 g de solo foram submetidos a irradiação de micro-ondas (Panasonic, Brasil, potência 1450W, tensão 120V, frequência 2.450 MHz) durante 2 min e receberam adicionalmente 2 g de solo

sem irradiação. Os controles diferiram-se por não serem submetidos à irradiação. As réplicas foram incubadas em sistemas hermeticamente fechados e isentos de fluxo de CO<sub>2</sub>. Dentro do sistema foram adicionados frascos contendo 10 mL de NaOH para captação do CO<sub>2</sub> proveniente da atividade biológica. Após 10 dias, os recipientes de NaOH receberam 5mL de BaCl<sub>2</sub> e duas gotas de fenolftaleína. A quantidade de CO<sub>2</sub> liberado de cada amostra foi obtido através da titulação com HCl (1 mol L<sup>-1</sup>). Os resultados foram expressos em microgramas de carbono por grama de solo (µg C g<sup>-1</sup>) e calculados pela diferença entre o carbono liberado pelas amostras irradiadas e não irradiadas utilizando fator de conversão (Kc) de 0,45 (De-Polli e Guerra, 1996).

## **2.5. Análises estatísticas**

Uma ANOVA Two-way foi construída para verificar a influência das culturas de cana-de-açúcar, soja e milho, assim como períodos de chuva e seca sobre a ação de hidrolases. Os dados foram analisados de acordo com tratamentos dispostos em esquema fatorial 4 x 2 x 6, sendo quatro tipos de uso do solo (cana, soja, milho e cerrado nativo), dois períodos do ano (chuva e seca) e seis locais de amostragem (Tabela 1). O teste de Tukey foi aplicado para avaliar as diferenças entre as médias de atividade de cada enzima, nas quatro classes de uso do solo, dois períodos do ano e seis pontos de amostragem, considerando p<0,05.

Os dados de atividade enzimática total foram submetidos a análise multivariada (MANOVA One-way) para verificar de modo global a influência do tipo de cobertura vegetal sob a atividade, em conjunto, das cinco enzimas. As médias de

atividade enzimática total foram comparadas pelo teste a posteriori (teste T<sup>2</sup> de Hotelling), considerando  $p < 0,05$ .

As relações entre parâmetros biológicos (atividade enzimática e  $C_{mic}$ ) e parâmetros químicos ( $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{+2}$ , P, MO, COT, NT) foram identificadas via Correlação de Pearson, utilizando a média dos valores de tais atributos para cada tipo de uso do solo. As análises foram realizadas no programa científico Assistat 7.7 (Silva, 2009) e os gráficos foram plotados no Sigmaplot versão 12.0.

### **3. Resultados e discussão**

#### **3.1. Avaliação da influência de culturas agrícolas nas propriedades químicas do solo**

A substituição da vegetação nativa por plantio de cana, soja ou milho gerou mudanças nas características químicas dos solos avaliados, que podem ser observadas pela avaliação dos teores de matéria orgânica, carbono orgânico e nitrogênio total (Tabela 2). As áreas de cana-de-açúcar apresentaram menor teor de matéria orgânica (MO) (2,2%), carbono orgânico total (COT) (1,3%) e nitrogênio total (NT) (0,09%) em relação às demais classes de uso do solo. A abundância desses elementos no solo está associada à disponibilidade de resíduos fornecidos pela vegetação e à capacidade da microbiota em realizar processos de ciclagem de nutrientes (Toledo et al., 2002).

**Tabela 2:** Características químicas e carbono da biomassa microbiana das amostras de solos coletados em Cerrado nativo e culturas de cana, soja e milho (profundidade 0-10 cm), no estado de Goiás, Brasil.

Características químicas do solo <sup>†</sup>	Tipo de uso do solo			
	Cana	Soja	Milho	Cerrado
P (Melich I) cmolc/dm <sup>-3</sup>	12±8,2 <sup>a</sup>	17,4±9 <sup>a</sup>	22,8±15 <sup>a</sup>	10,7±10,2 <sup>a</sup>
K <sup>+</sup> cmolc/dm <sup>-3</sup>	80,1±78 <sup>a</sup>	53,1±52 <sup>a</sup>	58,1±57 <sup>a</sup>	63,3±62,3 <sup>a</sup>
Mg <sup>+2</sup> cmolc/dm <sup>-3</sup>	1,0±0,3 <sup>a</sup>	1,0±0,04 <sup>a</sup>	1,1±0,5 <sup>a</sup>	1,3±1,2 <sup>a</sup>
Ca <sup>+2</sup> cmolc/dm <sup>-3</sup>	3,3±0,8 <sup>a</sup>	4,1±2 <sup>a</sup>	4,3±1,5 <sup>a</sup>	4,2±3,9 <sup>a</sup>
MO %	2,2±0,5 <sup>b</sup>	2,5±0,5 <sup>ab</sup>	2,6±0,8 <sup>ab</sup>	3,3±1,3 <sup>a</sup>
COT %	1,3±0,3 <sup>b</sup>	1,4±0,3 <sup>ab</sup>	1,6±0,5 <sup>ab</sup>	1,9±0,7 <sup>a</sup>
NT %	0,09±0,02 <sup>b</sup>	0,12±0,02 <sup>ab</sup>	0,14±0,1 <sup>ab</sup>	0,17±0,1 <sup>a</sup>
C <sub>mic</sub> (µg g <sup>-1</sup> de C)	8,0±5,7 <sup>c</sup>	9,3±3,2 <sup>bc</sup>	11,0±6,0 <sup>ab</sup>	12,8±4,9 <sup>a</sup>

Valores seguidos com mesma letra em diferentes colunas não são estatisticamente diferentes ( $p > 0,05$ ). <sup>†</sup> MO: matéria orgânica; COT: carbono orgânico total; NT: nitrogênio total; C<sub>mic</sub>: carbono da biomassa microbiana.

O efeito negativo do uso do solo pode ser observado pela redução no teor desses elementos em áreas convertidas a ecossistemas agrícolas de monocultura. As áreas de cultivo de cana-de-açúcar apresentam em comparação com o cerrado, 50% menos do teor de MO, 46% de COT e 89% de NT. Os valores encontrados para COT e NT nos solos com plantio de cana-de-açúcar representam uma consequência da quantidade menor de matéria orgânica nesses solos, que é um reflexo do tipo de manejo associado a esta cultura. As áreas destinadas ao plantio de cana-de-açúcar não apresentam alternância com qualquer outro tipo de cultura, o que tende a diminuir a diversidade de recursos para a manutenção da comunidade microbiana (Moody et al., 1999; Cheesman, 2005; Rachid et al., 2012).

O cultivo de cana-de-açúcar é um grande atrativo para o produtor no Cerrado, em função dos aspectos edafoclimáticos do bioma e também pela produtividade elevada desta cultura devido ao metabolismo envolvendo a assimilação de CO<sub>2</sub>. A

cana, juntamente com outras culturas adaptadas a climas tropicais, é uma planta tipo C4, ou seja, assimila o CO<sub>2</sub> da atmosfera primeiramente para a formação de compostos de quatro carbonos para depois liberar esta molécula no ambiente em que ocorrerá a sua fixação pela enzima Ribulose 1,5-bisfosfato Carboxilase/Oxigenase (Sage, 2004; Gibbs et al., 2008; Souza et al., 2008). As plantas que possuem este tipo de metabolismo tem maior sucesso na fixação de CO<sub>2</sub>, o que traz maior ganho de biomassa, com consequências para maior produtividade em clima tropical (Sage, 2004; Long et al., 2006).

De acordo com Assis et al. (2006) os diferentes sistemas de manejo, quando o foco está apenas na cultura e não no sistema solo-planta-atmosfera, tem demonstrado alterações em propriedades químicas, como nos teores de matéria orgânica do solo, que podem prejudicar o processo de mineralização de compostos orgânicos. Diferentes autores afirmam que a introdução de culturas agrícolas no solo altera os componentes da microbiota, a composição e a entrada de matéria orgânica (Polwson et al., 1987; Hendrix et al., 1990; Entry et al., 2002).

É de conhecimento científico que existe uma inter-relação entre os atributos químicos do solo e o desenvolvimento da comunidade microbiana (Balota et al., 1998; Green et al., 2007; Balota e Auler, 2011; Balota e Chaves, 2011; Balota et al., 2014). Neste trabalho, a análise de correlação apontou que esta relação também existe para todos os solos amostrados e é significativa considerando-se o Cmic e nitrogênio total ( $p=0,0203$ ), Cmic e carbono orgânico total ( $p=0,0035$ ) e Cmic e matéria orgânica ( $p=0,0034$ ).

Os resultados apresentados na Tabela 2 também demonstram que as culturas anuais não alteraram significativamente os parâmetros do solo relativos à atividade microbiana. As áreas de Cerrado nativo e milho foram as que

apresentaram maior nível de  $C_{mic}$  ( $12,8 \mu\text{g g}^{-1}$  e  $11,0 \mu\text{g g}^{-1}$  de C no solo), quando comparadas aos demais agroecossistemas ( $8,0$  e  $9,3 \mu\text{g g}^{-1}$  de C no solo, em cana e soja, respectivamente). Estes dados estão em conformidade com a literatura científica, que também aponta reduções no teor de matéria orgânica e biomassa microbiana em ecossistemas agrícolas (Oliveira et al., 2001; Matsuoka, et al., 2003; Bini et al., 2013).

A redução em  $C_{mic}$  pode ser atribuída a dois fatores: quantidade e qualidade da matéria orgânica e composição de espécies presentes em áreas de Cerrado Nativo. Nesses ecossistemas, a ausência de interferência antrópica propicia, ao longo do tempo, maior acúmulo de resíduos orgânicos na superfície do solo. A maior abundância de raízes e espécies vegetais geram maior disponibilidade de substratos orgânicos advindos da rizosfera (Bopaiah e Shetti, 1991; King et al., 2004; Zhu et al., 2014) e a deposição de resíduos orgânicos com composição variada. Dessa forma, diferentes substratos são ofertados estimulando a atividade microbiana em fluxo contínuo. Esses fatores propiciam condições de equilíbrio que favorecem a atuação da microbiota e ciclagem de nutrientes.

Os sistemas de culturas anuais, por adotarem o plantio direto como forma de manejo, não deixam o solo exposto por longos períodos de tempo e ainda mantem parte da matéria orgânica na superfície do solo quando ocorre a colheita (Baker et al., 2007), como o que foi realizado nas áreas de soja e milho. Por esta razão acredita-se que os valores encontrados em MO, COT e NT não se diferiram do solo do Cerrado como o que ocorreu com as áreas de plantio de cana. Alguns autores que avaliaram a influência do manejo sobre a qualidade do solo observaram o efeito benéfico da técnica de plantio direto para minimizar a perda de fertilidade pelo impacto causado na adoção da cultura em detrimento da remoção da vegetação

nativa (D'Andrea et al., 2002; Balota et al., 2014). Segundo os autores, a maior quantidade de COT melhora as condições físicas do solo (estabilidade dos agregados) que protegem o habitat microbiano, além de viabilizar compostos para a serem degradados. Conseqüentemente há maior capacidade de mineralização e imobilização de nutrientes por microrganismos presentes na matéria orgânica em decomposição.

### **3.2. Avaliação da influência de culturas agrícolas nas propriedades bioquímicas do solo**

Na análise bioquímica das amostras de solos de Cerrado e aqueles sob cultivo de cana, soja e milho as enzimas  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida, protease e glicina aminopeptidase mostraram-se sensíveis às mudanças no tipo de cobertura vegetal (Fig. 1).

Para  $\alpha$ -glicosidase e  $\beta$ -glicosidase as áreas de cerrado nativo, milho e soja apresentaram os maiores valores e não se diferiram estatisticamente (Fig. 1 e Fig. 2). Os solos coletados em culturas de cana-de-açúcar apresentaram menor valor de atividade de ambas as enzimas em relação às áreas de cerrado nativo ( $\alpha$ -glicosidase:  $2,8 \mu\text{mol } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ;  $\beta$ -glicosidase  $37,7 \mu\text{mol } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) e as áreas sob cultivo anual de milho ( $\alpha$ -glicosidase:  $8,4 \mu\text{mol } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  e  $\beta$ -glicosidase:  $63 \mu\text{mol } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) e soja ( $\alpha$ -glicosidase:  $5,6 \mu\text{mol } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  e  $\beta$ -glicosidase:  $50,4 \mu\text{mol } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ).

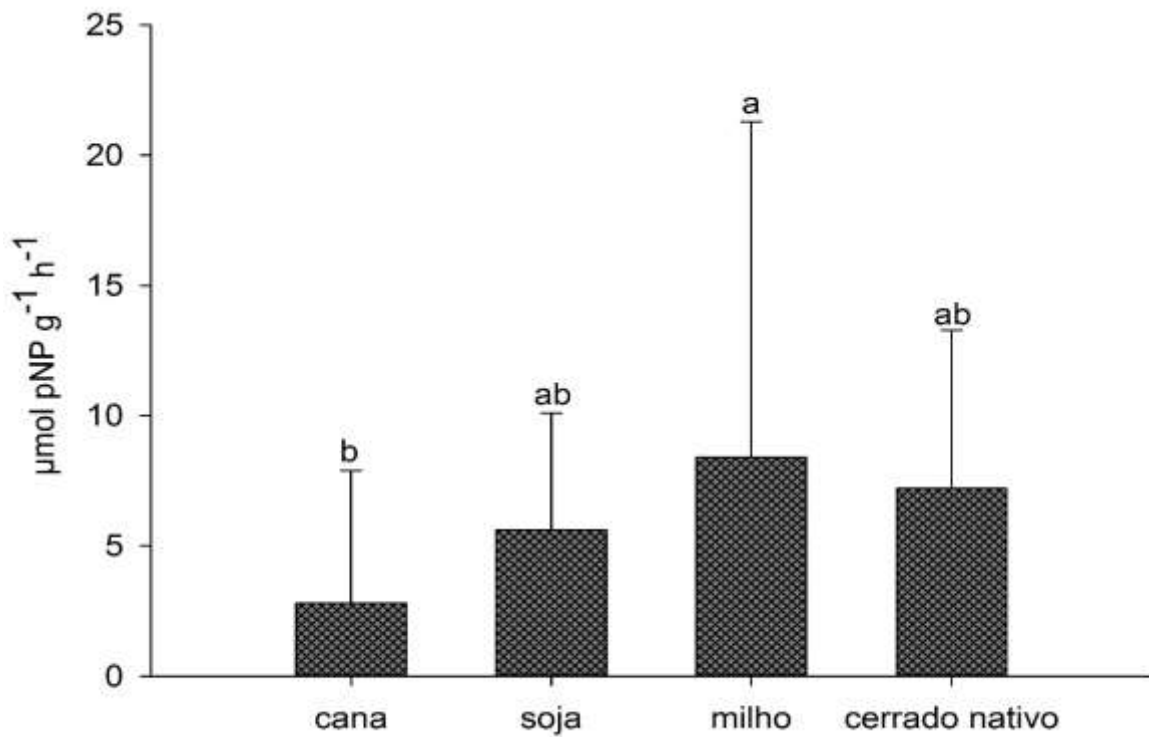


Figura 1. Atividade de  $\alpha$ -glicosidase em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , ANOVA e teste de Tukey).

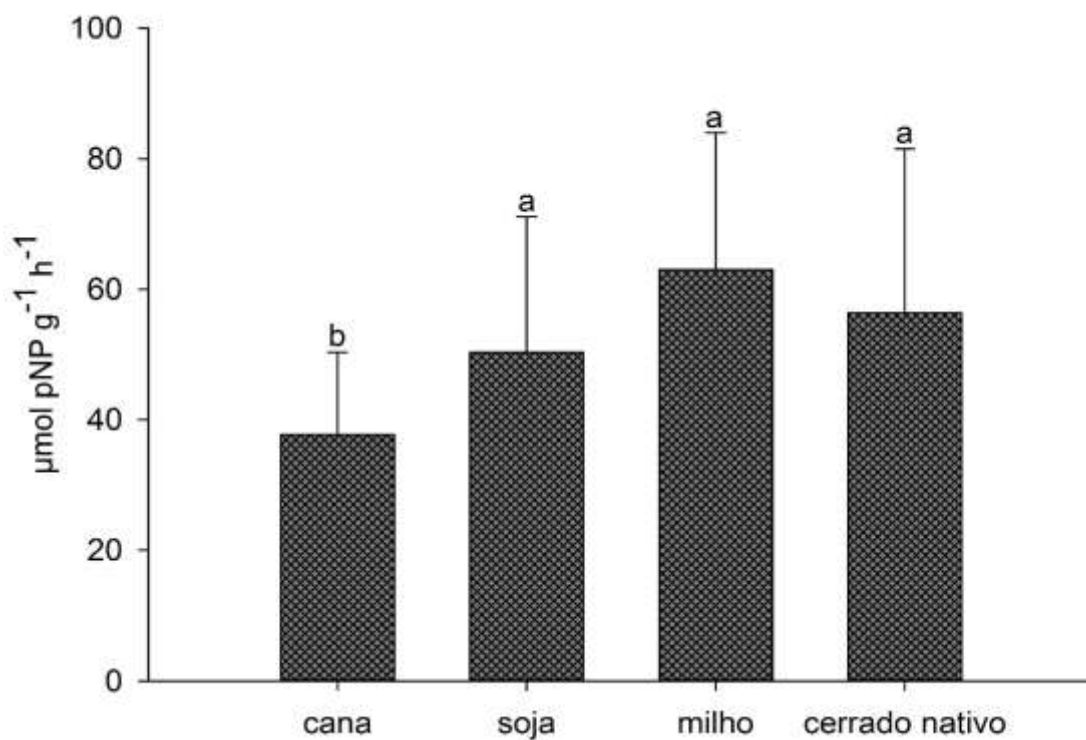


Figura 2. Atividade de  $\beta$ -glicosidase em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , ANOVA e teste de Tukey).



As diferenças observadas entre as áreas de Cerrado, culturas anuais e cana-de-açúcar seguem o mesmo padrão apresentado para a análise dos teores de matéria orgânica, nitrogênio total, carbono orgânico total e  $C_{mic}$ . Isto ocorre porque as glicosidases estão relacionadas ao ciclo do carbono (Eivazi e Tabatabai, 1988; Vihinen e Mäntsälä, 1989; Dick e Tabatabai, 1993; Bhatia et al., 2002), em que a degradação de amido e celulose no solo depende, dentre outros fatores, da velocidade da respiração celular no solo (Mizuta et al., 2015). A maior presença de matéria orgânica nos solos do Cerrado, milho e soja promove um ambiente rico em nutrientes, aumentando a oferta de recursos para o crescimento microbiano, que pode ser evidenciada tanto pela maior atividade das glicosidases, que são enzimas extracelulares produzidas pelos microrganismos, quanto pelos maiores valores de  $C_{mic}$  nesses solos.

Doran e Parkin (1994) e Alves et al. (2011) afirmam que o sistema de uso do solo exerce influência sobre a atividade metabólica de microrganismos e na atividade enzimática do solo. Os sistemas de manejo que pouco perturbam o solo podem manter ou elevar os teores de matéria orgânica na superfície (Kern e Johnson, 1993; Amado et al., 1999). Nas áreas amostradas, exceto para a cultura de cana-de-açúcar, os produtores de grãos associam técnicas de plantio direto e rotação de culturas. Segundo Roldan et al. (2005), a quantidade de resíduos produzidos através do revolvimento do solo com arado é menor do que o resíduo produzido por plantio direto, e o uso de arados e grades afetam a estabilidade dos agregados e reduzem a concentração de glomalina, que consiste numa glicoproteína que age sobre a estabilização de agregados no solo.

Diferentemente das glicosidases, a atividade de fosfatase ácida foi maior observada nas áreas de Cerrado em relação às culturas agrícolas (Fig. 3), o que era

esperado pelos resultados da análise do teor de P no solo (Tabela 1). Esta diferença é geralmente associada à disponibilidade de fosfato inorgânico no solo, que tende a ser maior em áreas agrícolas em decorrência da utilização de fertilizantes que contêm este componente na sua formulação (Esposito e Azevedo, 2004). Além disto, a baixa concentração de fósforo no solo é essencial para que ocorra a ativação de fatores de transcrição e a expressão dos genes associados a fosfatases (Leal et al., 2007).

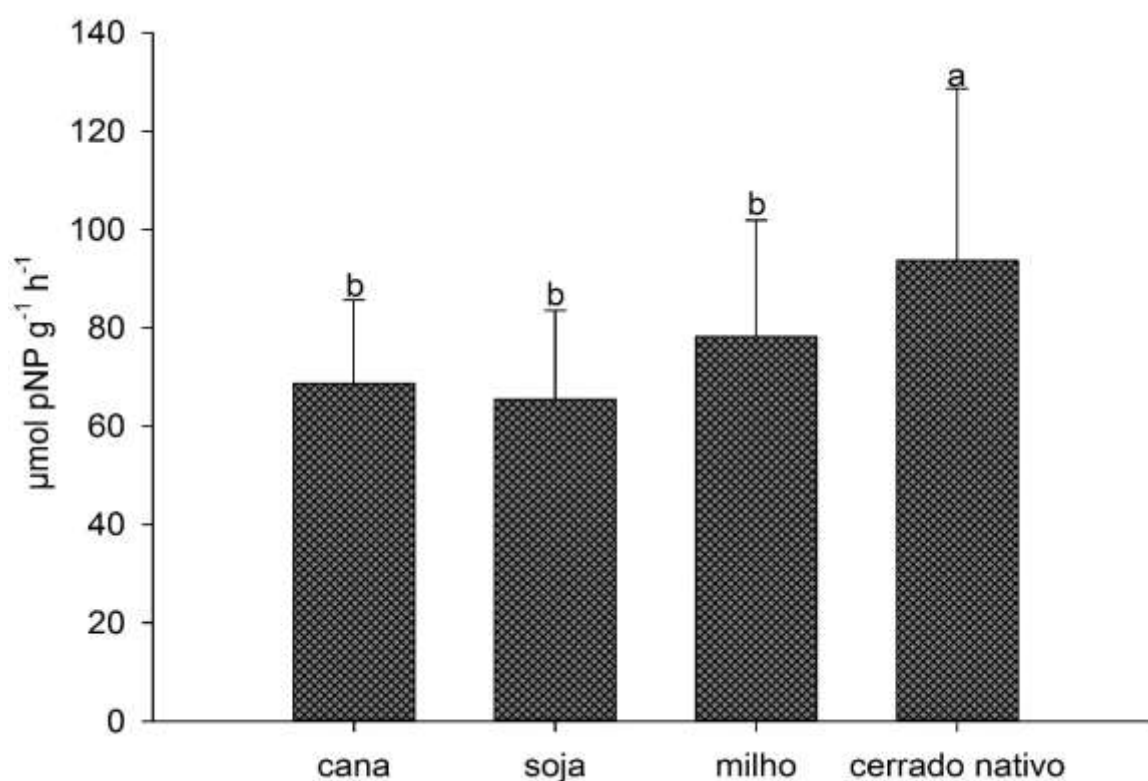


Figura 3. Atividade de fosfatase ácida em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , ANOVA e teste de Tukey).

Dessa forma, a atividade de fosfatase tende a ser menor quando há maior abundância de fosfato inorgânico no solo (Nahas, 1989; Allison et al., 2007), o que provavelmente explica os valores dessa atividade encontrados neste estudo. Provavelmente, a fertilização realizada via introdução de fósforo inorgânico no solo aumentou a oferta de fosfato inorgânico, diminuindo a atividade enzimática. Esta

justificativa é sustentada pelas observações de Vepsäläinen et al. (2001), já que a atividade de fosfatase foi mais baixa em solos com maior concentração de fosfato e foi controlada pela adição de fertilizantes.

Finalmente, Alves et al. (2011) constataram que as práticas agrícolas podem causar distúrbios na comunidade microbiana e como consequência afetar os processos biogeoquímicos que ocorrem no solo. Estudos realizados por Carneiro et al. (2008), Jakelaitis et al. (2008) e Silva et al. (2012) certificaram a mesma tendência de aumento da atividade de fosfatase em solos preservados.

Para a enzima glicina aminopeptidase (Fig. 4) foi observado que as áreas de Cerrado nativo apresentaram maior atividade em relação ao que foi observado nas áreas agrícolas. Diversos autores identificaram que as mudanças no uso do solo acarretaram alterações na atividade de peptidases no solo (Zhang et al., 2010; Cordeiro et al., 2012; Vranova et al., 2013; Pandey et al., 2014; Zhang et al., 2015). Este resultado demonstra que o impacto causado pela remoção da vegetação nativa, associado à perda de biomassa microbiana (Tabela 2) podem ser co-responsáveis pelas diferenças observadas entre as classes de uso do solo.

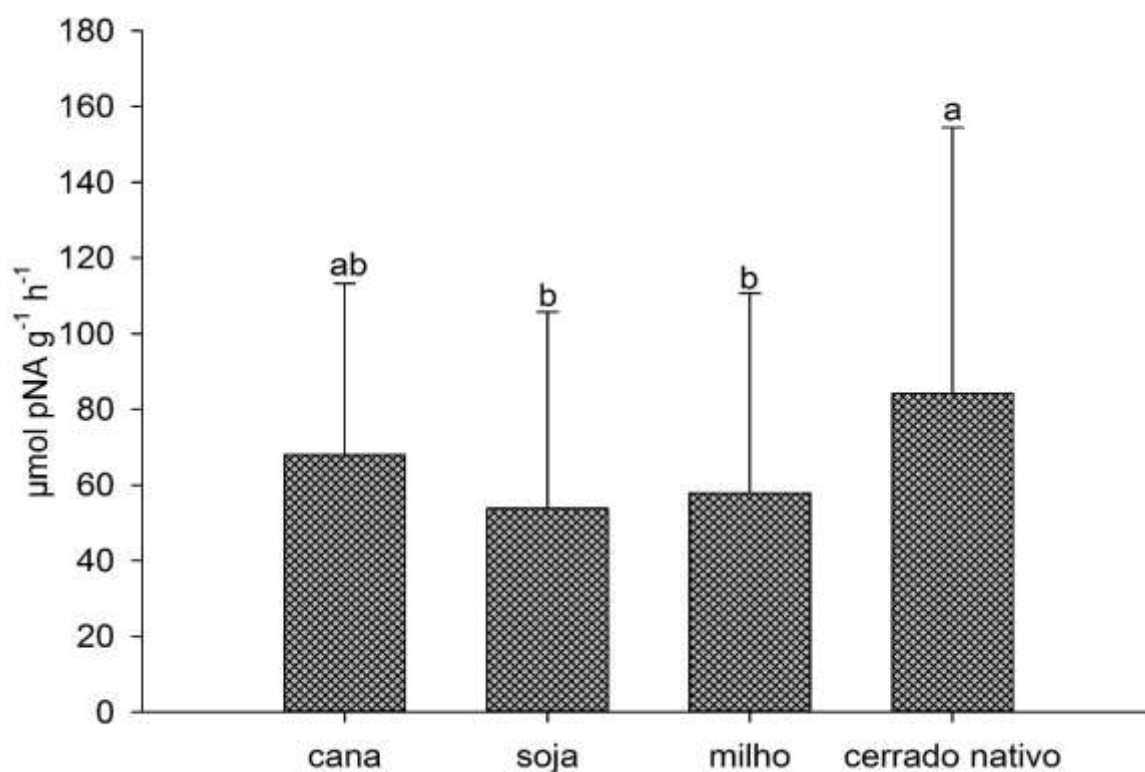


Figura 4. Atividade de glicina aminopeptidase em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , ANOVA e teste de Tukey).

A remoção da vegetação típica de um ecossistema natural para sistemas agrícolas ocasiona elevação da temperatura do solo, processos erosivos, compactação do solo, redução na entrada e diversidade de recursos. Isso afeta diretamente a atividade microbiana do solo e ocasiona modificações nos processos microbianos associados ao ciclo do nitrogênio, prejudicando a sustentabilidade desse ecossistema (Li et al., 2004; Nogueira et al., 2006; Fagotti et al., 2012). Um fato importante a ser considerado dentro desse contexto, é que maiores taxas de mineralização conferem a imobilização de maiores teores de N e reduzem as perdas desse elemento por lixiviação ou desnitrificação (Fagotti et al., 2012).

Enzimas relacionadas ao ciclo do nitrogênio são dependentes da quantidade e qualidade de substratos (Enowash et al., 2009). A diversidade de espécies

presentes em áreas de Cerrado favorece a entrada de resíduos orgânicos com composição química diversificada e aumenta os estoques de C e N orgânico do solo, que por sua vez estimulam a atividade enzimática e aumento da biomassa microbiana (Nayak et al., 2007; Bini et al., 2013; Kuwano et al., 2014). Existem também evidências de que a comunidade microbiana é sensível a fertilização por N, P e K, que por sua vez podem exercer, a curto ou a longo prazo, influência sobre a microbiota e atividade enzimática (Geisseler e Scow, 2014).

A protease no solo apresentou um padrão de atividade distinto do que foi observado para a glicina aminopeptidase, embora ambas possam ser associadas a substratos semelhantes (Fig. 5). Enquanto glicina aminopeptidase apresentou valores mais elevados em áreas de cerrado (146,06  $\mu\text{mol } p\text{-nitroanilina g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) (Fig. 1D), a atividade de protease foi a menor observada neste mesmo ecossistema (0,07  $\text{U g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) (Fig. 5).

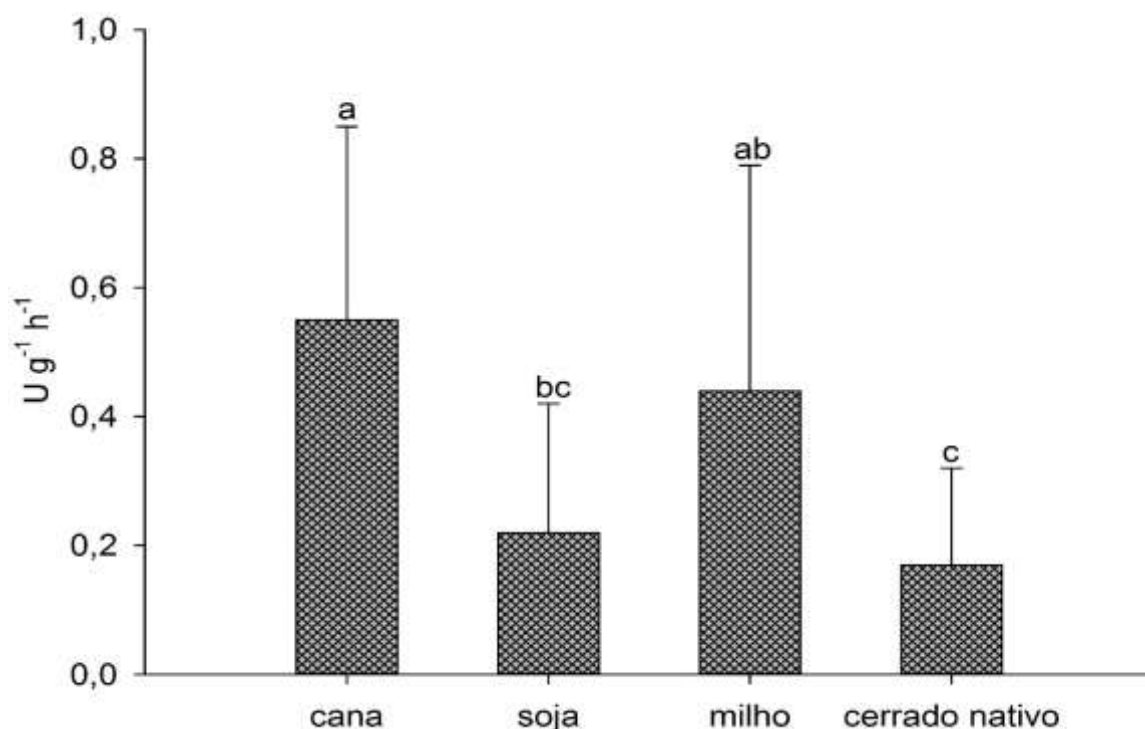


Figura 5. Atividade de protease em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , ANOVA e teste de Tukey).

Esta enzima pode ter sido estimulada pela qualidade dos substratos proteicos em áreas de cultivo em relação ao que ocorre no ambiente natural (Cerrado). Se por um lado a adição de matéria orgânica promove incrementos na atividade de protease (Kandeler et al., 1999), é conhecido que enzimas proteolíticas dependem da concentração de substratos proteicos e das variações na temperatura e no pH do solo (Weintraub e Schimel 2005; Geisseler e Horwath, 2008; Rejsek et al., 2008). Dessa forma, o pH mais alcalino (5,7) das áreas de cana-de-açúcar em relação ao cerrado (pH 4,9) podem ter melhorado as condições para ação dessa enzima. Além disso, pode ser que bactérias e fungos, que são importantes produtores de proteases em solos (Gupta et al., 2002) não tenham sido afetados pela adubação nitrogenada (Treseder, 2008). Dessa forma o efeito conjunto do pH e fertilização do solo pode ter viabilizado a ação das proteases em áreas de cultivo perene.

A avaliação conjunta das atividades de enzimas relacionadas ao ciclo do carbono ( $\alpha$ -glicosidase e  $\beta$ -glicosidase), juntamente com enzimas do ciclo do fósforo (fosfatase ácida) e ciclo do nitrogênio (glicina aminopeptidase e protease) para avaliar a influência do uso do solo sobre a atividade biológica está apresentada na Figura 6. Os resultados confirmam a hipótese de que a atividade enzimática é maior em áreas de Cerrado nativo ( $69,9 \mu\text{mol de produto g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ).

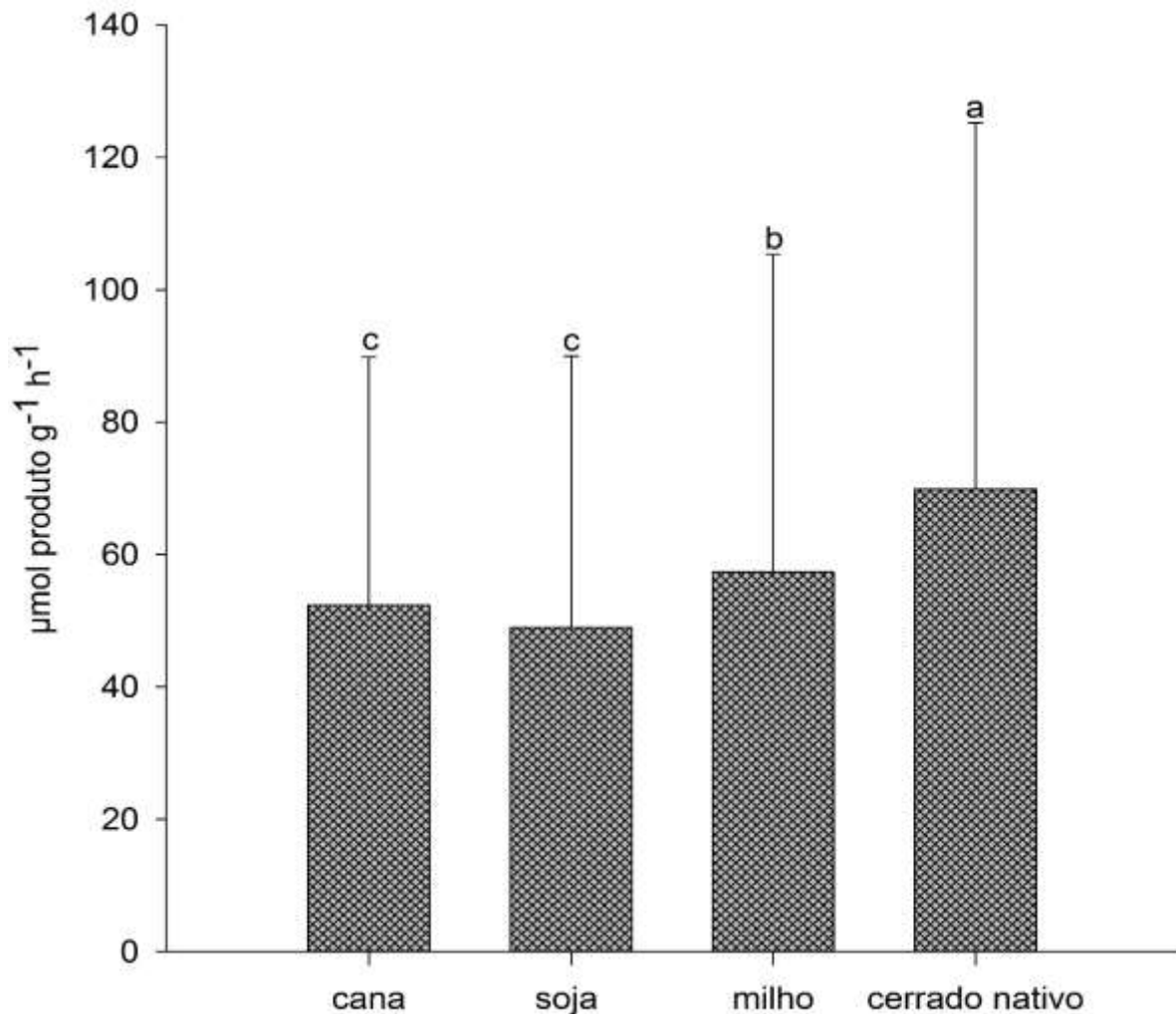


Figura 6. Atividade enzimática total em diferentes tipos de uso do solo. Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0,05$ , MANOVA e teste de  $T^2$  Hotelling).

Esses achados reafirmam que parâmetros biológicos podem ser utilizados para indicar variações ambientais decorrentes do uso do solo. Dentro deste contexto, o estudo revelou que a atividade de hidrolases apresenta variações significativas entre diferentes classes de uso do solo. Esses resultados demonstram que a substituição de vegetação nativa por sistemas agrícolas tem ocasionado impactos no ecossistema solo, já que o desmatamento promove a perda de diversidade de microrganismos que são responsáveis pelos processos bioquímicos e ciclagem de nutrientes no solo (Nogueira et al., 2006; Castro et al., 2008; Kaschuk et al., 2010; Rodrigues et al., 2013).

Cada enzima comporta-se de maneira distinta de acordo com as condições ambientais. Fosfatase ácida e glicina aminopeptidase tiveram suas atividades reduzidas em sistemas de agrícolas. Por outro lado,  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidase tiveram um incremento na atividade em áreas de Cerrado nativo e de cultivo anual e a protease é menos ativa em solo de Cerrado nativo. Entretanto, é possível perceber que as culturas perenes (cana-de-açúcar) parecem acarretar modificações químicas mais severas e impactar de modo negativo a atividade de algumas enzimas.

Considerando esse contexto, a implantação de culturas anuais, aliado ao sistema de plantio direto e rotação de culturas, poderia contribuir de forma positiva para melhoria da qualidade de atributos químicos e biológicos em áreas já desmatadas (Bini et al., 2014). Consequentemente, o funcionamento bioquímico do solo e sua capacidade de ciclagem e mineralização de compostos também é ampliada, promovendo assim ganhos em fertilidade do solo.

Segundo Roldan et al. (2005), o plantio direto é mais eficaz para a melhoria da qualidade bioquímica do solo e redução de perdas de nutrientes por meio da imobilização por microrganismos (Doran e Parkin, 1994). Esse tipo de manejo do solo pode estimular a atividade de enzimas e ciclagem de carbono, contribuindo para melhorar a sustentabilidade do agroecossistema (Balota et al., 2004, Cordeiro et al., 2012).

A resposta rápida dessas hidrolases a transformações geradas pela ação antrópica pode indicar de forma precoce o estado de conservação do solo, ou seja, a qualidade do solo sob uso agrícola.



#### **4. Conclusão**

No presente estudo, hidrolases relacionadas a ciclagem de C, N e P comportaram-se de forma distinta de acordo com a vegetação de cobertura do solo. A associação entre formas mais sustentáveis de gestão do solo (plantio direto e rotação de culturas) pode ser útil para a melhoria da atividade biológica, decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes em solos agrícolas. É importante salientar que a atividade biológica é mais intensa em solos com vegetação nativa do que naqueles antropizados.

Essas variações refletem o status do solo e demonstram que essas enzimas são sensíveis a variações ambientais decorrentes de práticas de gestão e uso do solo. Os sistemas de plantio do tipo monocultura não contribuem para a renovação dos atributos biológicos do solo, o que pode ser constatado pelas alterações nos componentes orgânicos deste sistema.

Em virtude dos fatos mencionados, conclui-se que as hidrolases do solo podem ser úteis no monitoramento da qualidade desses ecossistemas e podem ser apontadas como bons indicadores de qualidade do solo.

#### **Agradecimentos**

À FAPEG - Fundação de Amparo a Pesquisa de Goiás pela concessão da bolsa de mestrado. Capes/FAPEG (AuxPE 2036/2013). Ao Programa Institucional de Bolsas de Incentivo à Pesquisa (BIP/UEG). Ao Programa de Pós graduação *stricto sensu* em Recursos Naturais do Cerrado da Universidade Estadual de Goiás.

## Referências

Allison, S.D., Vitousek, P.M., 2005. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biol Biochem.* 37, 937-944.

Allison, V.J., Condon, L.M., Peltzer, D.A.; Richardson, S.J., Turner, B.L., 2007. Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence. *Soil Biol. Biochem.* 39, 1770-1781.

Alves, T.S., Campos, L.L., Neto, N.E., Matsuoka, M., Loureiro, M.F., 2011. Biomass and soil microbial activity under native vegetation and different soil managements. *Acta Sci. Agron.* 33, 341-347.

Amado, T.J.C., Mielniczuk, J., Fernandes, S.B.V., Bayer, C., 1999. Cover crops, total soil nitrogen accumulation and corn yield. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 23, 679-686.

Assis, C.P., Jucksch, I., Mendonça, E.S., Neves, J.C.L., 2006. Carbon and nitrogen in aggregates of an Oxisol submitted to different use and management systems. *Pesq. Agropec. Bras.* 41, 1541-1550.

Babujia, L.C., Hungria, M., Franchini, J.C., Brookes, P.C., 2010. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. *Soil Biol Biochem.* 42, 2174-2181.

Badiane, N.N.Y., Chotte, J.L., Pate, E., Masse, D., Rouland, C., 2001. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. *Appl. Soil Ecol.* 18, 229-238.

Baker, C.J., Saxton, K.E., Ritchie, W.R., Chamen, W.C.T., Reicosky, D.C., Ribeiro, F., Justice, S.E., Hobbs, P.R., 2007. No-tillage seeding in conservation agriculture. Segunda edição. Oxford, CAB International/FAO, pp. 3-33.

Baldrian, P., Valášková, V., Merhautová, V., Gabriel, J., 2005. Degradation of lignocellulose by *Pleurotus ostreatus* in the presence of copper, manganese lead and zinc. *Res Microbiol.* 156, 670-676.

Balota, E.L., Auler, P.A.M., 2011. Soil microbial biomass under different tillage systems and permanent groundcover cultivation between orange tree. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 35, 1873-1883.

Balota, E.L., Calegari, A., Nakatani, A.S., Coyne, M.S., 2014. Benefits of winter cover crops and no-tillage for microbial parameters in a Brazilian Oxisol: A long-term study. *Agric. Ecosyst. Environ.* 197, 31-40.

Balota, E.L., Chaves, J.C.D., 2011. Microbial activity in soil cultivated with different summer legumes in coffee crop. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 54, 35-44.

Balota, E.L., Colozzi-Filho, A., Andrade, D.S., Hungria, M., 1998. Microbial biomass and its activity in soils under different tillage and crop rotation systems. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 22, 641-649.

Balota, E.L., Kanashiro, M., Colozzi Filho, A., Andrade, D.S., Dick., R.P., 2004. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. *Braz. J. Microbiol.*, 35:300-306.

Balota, E.L., Machineski O., Truber, P.V., Auler, P.A.M., 2011. Effect of tillage systems and permanent groundcover intercropped with orange trees on soil enzyme activities. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 54, 221-228.

Bayer, C., Mielniczuk, J., 2008. Dinâmica e função da matéria orgânica, in: Santos, G.A.; Silva, L.S.; Canellas, L.P.; Camargo, F.A.O. (Eds), *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. Ed. Metrópole, Porto Alegre, pp.7-18.

Bayer, C.; Mielniczuk. J.; Martin-Neto, L., 2000. Efeito de sistemas de preparo e de cultura na dinâmica da matéria orgânica e na mitigação das emissões de CO<sub>2</sub>. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 24, 599-607.

Benedetti, A., Dilly, O., 2006. Approaches to defining monitoring, evaluating and managing soil quality, in: Bloem, J., Hopkins, D.W., Benedetti, A. (Eds), *Microbial methods for assessing soil quality*. Oxfordshire, CABI Publishing, pp. 3-15.

Beuchle, R., Grecchi, RC, Shimabukuro, YE, Seliger, R., Eva, HD, Sano, E., Achard, F., 2015. Land cover changes in the Brazilian Cerrado and Caatinga biomes from 1990 to 2010 based on a systematic remote sensing sampling approach. *Appl Geogr.* 58, 116-127.

Bhatia, Y., Mishra, S., Bisaria, V.S., 2002. Microbial  $\beta$ -glucosidase: cloning, properties and applications. *Crit. Rev. Biotechnol.* 22, 375-407.

Bini, D., Santos, C.A., Bernal, L.P.T., Andrade, G., Nogueira, M.A., 2014. Identifying indicators of C and N cycling in a clayey Ultisol under different tillage and uses in winter. *Appl. Soil Ecol.* 76, 95-101.

Bini, D., Santos, C.A., Carmo, K.B., Kishino, N., Andrade, G., Zangaro, W., Nogueira, M.A., 2013. Effects of land use on soil organic carbon and microbial processes associated with soil health in southern Brazil. *Eur. J. Soil Biol.* 55, 117-123.

Bopaiah, B.M., Shetty, H.S., 1991. Soil microflora and biological activities in the rhizospheres and root regions of coconut-based multistoreyed cropping and coconut monocropping systems. *Soil Biol. Biochem.* 17, 297-302.

Brussaard, L., Kuyper, T.W., Didden, W.A.M., de Goede, R.G.M., Bloem, J., 2004. Biological soil quality: from biomass to biodiversity – importance and resilience to management stress and disturbance, in: Schjonning, P., Elmholt, S., Christensen, B.T. (Eds.), *Managing Soil Quality: Challenges in Modern Agriculture*. CAB International, Wallingford, pp. 139-161.

Cardoso, E.J.B.N., Vasconcellos, R.L.F., Bini, D., Miyauchi, M.Y.H., Santos, C.A., Alves, P. R.L., Paula, A.M., Nakatani, A.S., Pereira, J.M., Nogueira, M.A., 2013. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health? *Sci. Agríc.* 70, 274-289.

Carneiro, M.A., Siqueira, J.O., Moreira, F.M.S., Soares, A.L.L., 2008. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa e atividade microbiana do solo em duas cronossequências de reabilitação após a mineração de bauxita. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 621-632.

Carvalho, J.L.N., Cerri, C.E.P., Cerri, C.C., Feigl, B.J., Píccolo, M.C., Godinho, V.P. Herpin, U., 2007. Changes of chemical properties in an oxisol after clearing of native Cerrado vegetation for agricultural use in Vilhena, Rondonia State, Brazil. *Soil Till. Res.* 96. 95-102.

Castro, A.P., Quirino, B.F., Papas Jr., G., Kurokawa, A.S., Leonardecz Neto, E., Krüger, R.H., 2008. Diversity of soil fungal communities of Cerrado and its closely surrounding agriculture fields. *Arch Microbiol.* 190, 129-139.

Castro Filho, C., Muzilli, O., Podanoschi, A.L., 1998. Soil aggregate stability and its relation with organic carbon in a typic haplorthox, as a function of tillage systems, crop rotations and soil sample preparation. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 22, 527-538.

Cheesman, O.D., 2005. Environmental Impacts of Sugar Production: the cultivation and processing of Sugarcane and Sugar Beet. Cabi Publishing.

Climate-data, 2015. Dados climáticos para cidades mundiais. Disponível em: <http://pt.climate-data.org/>. Acessado em: 02.11.15.

Cordeiro, M.A.S., Corá, J.E., Nahas, E., 2012. Biochemical and chemical attributes of rhizospheric and non-rhizospheric soil in no till crop rotation system. Rev. Bras. Ciênc. Solo. 36, 1794-1803.

D'Andréa, A.F., Silva, M.L.N., Curi, N., Siqueira, J.O., Carneiro, M.A.C., 2002. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do Cerrado no sul do Estado de Goiás. Rev. Bras. Ciênc. Solo. 26, 913-923.

De-Polli, H., Guerra, J.G.M., 1996. Biomassa microbiana: perspectivas para o uso e manejo do solo, in: Alvarez, V., Fontes, L.E.F., Fontes, M.P (Eds.), O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, 552-564.

Dick, W.A., Tabatabai, M.A., 1993. 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, 95-127.

Doran, J. W., Parkin, T. B., 1994. Defining and assessing soil quality. in: Doran, J. W., Coleman, D. C., Bezdiecek, D.F., Stawart, B. A. (Eds), Defining soil quality for a

sustanaible enviroment. Madison, Soil Science Society of America Journal, p. 3-22.

Doran, J.W., Zeiss, M.R., 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Appl. Soil Ecol.* 15, 3-11.

Eivazi, F., Tabatabai, M.A. 1988. Glucosidases and galactosidase in soils. *Soil Biol. Biochem.* 20, 601-606.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997. Manual de análises de solo. Segunda ed. Rio de Janeiro, Embrapa.

Enowashu, E., Poll, C., Lamersdorf, N., Kandeler, E., 2009. Microbial biomass and enzyme activities under reduced nitrogen deposition in a spruce forest soil. *Appl. Soil Ecol.* 43, 11-21.

Entry, J.A., Rygielwicz P.T., Watrud, L.S., Donnelly, P.K., 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. *Adv. Environ Res.* 7, 123-138.

Esposito, E., Azevedo, J.L. 2004. Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. Caxias do Sul: EDUCS, p. 638.

Fagotti, D.S.L., Miyauchi, M. Y. H., Oliveira, A. G., Santinoni, I. A., Eberhardt, D. N., Nimtz, A., Ribeiro, R. A., Paula, A. M., Queiroz, C. A. S., Andrade, G., Zangaro, W., Nogueira, M. A., 2012. Gradients in N-cycling attributes along forestry and



agricultural land-use systems are indicative of soil capacity for N supply. *Soil Use Manage.* 28, 292-298.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014. *World Reference Base for Soil Resources 2014. World Soil Resources Reports 106.* Rome.

Ferreira, A.S., Camargo, F.A.O., Vidor, C., 1999. Use of microwave radiation to evaluate soil microbial biomass. *Revista Brasileira de Ciência do Solo.* 23, 991-996.

Frazão, L.A., Piccolo, M.C., Feigl, B.J., Cerri, C.C., Cerri, C.E.P., 2010. Inorganic nitrogen, microbial biomass and microbial activity of a sandy Brazilian Cerrado soil under different land uses. *Agric. Ecosyst. Environ.* 135, 161-167.

Franchini, J.C., Crispino, C.C., Souza, R.A., Torres, E., Hungria, M., 2007. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in Southern Brazil. *Soil Till. Res.* 92, 18-29.

Geisseler, D., Horwath, W.R., 2008. Regulation of extracellular protease activity in soil in response to different sources and concentrations of nitrogen and carbon. *Soil Biol. Biochem.* 40, 3040-3048.

Geisseler, D., Scow, K.M., 2014. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms-A review. *Soil Biol. Biochem.* 75, 54-63.

Gessner, M.O., Swan, C.M., Dang, C.K., McKie, B.G., Bardgett, R.D., Wall, D.H., Hättenschwiler, S., 2010. Diversity meets decomposition. *Trends Ecol Evol.* 25, 372-380.

Gibbs, H.K., Johnston, M., Foley, J.A., Holloway, T., Monfreda, C., Ramankutty, N., Zaks, D., 2008. Carbon payback times for crop-based biofuel expansion in the tropics: the effects of changing yield and technology. *Environ. Res. Lett.* 3.

Grandy, A.S., Strickland, M.S., Lauber, C.L., Bradford, M.A., Fierer, N., 2009. The influence of microbial communities, management, and soil texture on soil organic matter chemistry. *Geoderma.* 150, 278-286.

Green, V.S., Stott, D.E., Cruz, J.C., Curi, N., 2007. Tillage impact on soil biological activity and aggregation in a Brazilian Cerrado Oxisol. *Soil Till. Res.* 92, 114-121.

Gupta, R., Beg Q.K., Khan, S., Chauhan, B., 2002. An overview on fermentation, downstream processing and properties of microbial alkaline proteases. *Appl. Microbiol. Biot.* 60, 381-395.

Hendrix, P.F., Crossley, D.A. Jr., Blair, J.M., Coleman, D.C., 1990. Soil biota as components of sustainable agroecosystems, in: Edwards, C.A., Lal, Rattan, Madden, Patrick, Miller, Robert H., House, Gar (Eds.), *Sustainable Agricultural Systems*. Soil and Water Conservation Society, IA, pp. 637-654.

Jakelaitis A., Silva, A.A., Santos, J.B., Vivian, R., 2008. Qualidade da camada superficial de solo sob mata, pastagens e áreas cultivadas. *Pesq. Agropec. Trop.*, 38, 118-127.

Janssen, P.H., Peek, K., Morgan, H.W., 1994. Effect of culture conditions on the production of an extracellular protease by *Thermus* sp. Rt41A. *Appl Microbiol Biotechnol.* 41, 400-406.

Kandeler, E., Palli, S., Stemmer, M., Gerzabek, M.H., 1999. Tillage changes, microbial biomass and enzyme activities in particle-size fractions of a Haplic Chernozem. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1253-1264.

Kaschuk, G., Alberton, O., Hungria, M., 2010. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. *Soil Biol. Biochem.* 42, 1-13.

Kern, J.S., Johnson, M.G., 1993. Conservation tillage impacts on national soil and atmospheric carbon levels. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 57, 200-210.

Khorramdel, S., Koocheki, A., Mahallati, M.N., Khorasani, R., Ghorbani, R., 2013. Evaluation of carbon sequestration potential in corn fields with different management systems. *Soil Till. Res.* 133, 25-31.

Killham, K., Staddon, W.J., 2002. Biondicators and sensors of soil health and the application of geostatistic, in: Burns, R.G., Dick, R.P. (Eds), Enzymes in the environment: activity, ecology and applications. CRC press, New York, pp. 397-406.

King, J.A., Bradley, R.I., Harrison, H., Carter, A.D., 2004. Carbon sequestration and saving potential associated with changes to the management of agricultural soils in England. *Soil Use Manage.* 20, 394-402.

Kuwano, B.H., Knob, A., Fagotti, D.S.L., Melém Júnior, N.J., Godoy, L., Diehl, R.C., Krawulski, C.C., Andrade Filho, G., Zangaro Filho, W., Tavares-Filho, J., Nogueira, M.A., 2014. Soil quality indicators in a Rhodic Kandudult under different uses in Northern Paraná, Brazil. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 38, 50-59.

Lacerda, K.A.P., Cordeiro, M.A.S., Verginassi, A., Salgado, F.H.M., Paulino, H.B., Carneiro, M.A.C., 2013. Organic carbon, biomass and microbial activity in an Oxisol under different management systems. *Rev. Cienc. Agrar.* 56, 249-254.

Ladeira, S.A., Andrade, M.V.V., Delatorre, A.B., Perez, V.H., Martins, M.L.L., 2010. Protease production using agroindustrial residues by thermophilic *bacillus* sp in submerged fermentation: optimization of the culture medium using an experimental design approach. *Química Nova.* 33, 324-328.

Lapig-Maps, 2015. Laboratório de processamento de imagens e geoprocessamento. Disponível em: <http://maps.lapig.iesa.ufg.br/lapig.html>. Acessado em 02.11.15.

Leal, J., Squina, F.M., Martinez-Rossi, N.M., Rossi, A. 2007. The transcription of the gene for iso-orotate decarboxylase (IDCase), an enzyme of the thymidine salvage pathway, is downregulated in the *pregc* mutant strain of *Neurospora crassa* grown under phosphate starvation. *Can J Microbiol.* 53, 1011-1015.

Li, Q., Allen, H.L., Wollum, A.G., 2004. Microbial biomass and bacterial functional diversity in forest soils: effects of organic matter removal, compaction, and vegetation control. *Soil Biol. Biochem.*, 36, 571–579.

Liu, X.B.; Han, X.Z.; Herbert, S.J.; Xing, B., 2003. Dynamics of soil organic carbon under different agricultural management system in the black soil of China. *Commun. Soil Sci. Plan.* 34, 973-984.

Long, S.P., Zhu, X.-G., Naidu, S., Ort, D.R., 2006. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant Cell Environ.* 29, 315-330.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2015. Projeções do Agronegócio: Brasil 2014/15 a 2024/25. Brasília, MAPA.

Martens, D.A., Johanson, J.B., Frankenberger, W.T., 1992. Production and persistence of soil enzymes with repeated addition of organic residues. *Soil Sci.* 153, 53-61.

Matsuoka M., Mendes, I.C., Loureiro, M.F., 2003. Microbial biomass and enzyme activities in soils under native vegetation and under annual and perennial cropping

systems at the primavera do leste region-mato grosso state. Rev. Bras. Ciênc. Solo. 27.425-433.

Mielniczuk, J., 1999. Matéria orgânica e a sustentabilidade de sistemas agrícolas. in: Santos, G.A., Camargo, F.A.O. (Eds), Fundamentos da matéria orgânica do solo. Ecossistemas tropicais e subtropicais. Genesis, Porto Alegre, p.1-8.

Mizuta, K., Taguchi, S., Sato, S., 2015. Soil aggregate formation and stability induced by starch and cellulose. Soil Biol. Biochem. 87, 90-96.

Moody, P.W., Bramley, R.G.V., Skjemstad, J.O., Garside, A.L., Bell, M.J., 1999. The effects of fallow and break crops on the quantity and quality of soil organic matter in cane soils. Proc. Aust. Soc. Sugar Cane Technol. 21, 87-91.

Munkholm, L.J., Heck, R.J., Deen, B., 2013. Long-term rotation and tillage effects on soil structure and crop yield. Soil Till. Res. 127, 85-91.

Nahas, E., 1989. Control and localization of the phosphatases in conidia of *Neurospora crassa*. Can. J. Microbiol. 35, 830-835.

Nannipieri, P., Kandeler, E., Ruggiero, P., 2002. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil, in: Burns, R.G., Dick, R.P. (Eds.), Enzymes in the Environment. Marcel Dekker, New York. p. 1-34.

Nayak, D.R., Babu, Y.J. & Adhya, T.K. 2007. Long-term application of compost influences microbial biomass and enzyme activities in a tropical Aerobic Endoaquept planted to rice under flooded condition. *Soil Biol. Biochem.* 39, 1897-1906.

Nielsen, M.N., Winding, A., 2002. Microorganisms as indicators of soil health. National Environmental Research Institute, Denmark, pp. 39-64.

Nogueira, M.A., Albino, U.B., Brandão-Junior, O., Braun, G., Cruz, M.F., Dias, B.A., Duarte, R.T.D., Gioppo, N.M.R., Menna, P., Orlandi, J.M., Raimam, M.P., Rampazzo, L.G.L., Santos, M.A., Silva, M.E.Z., Vieira, F.P., Torezan, J.M.D., Hungria, M., Andrade, G., 2006. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. *Agric. Ecosyst. Environ.* 115, 237-247.

Oldeman, L.R., 1994. The global extent of soil degradation, in: Greenland, D.J., Szabolcs, I. (Eds.), *Soil Resilience and sustainable land use*. Wallingford, CAB International, pp. 99-118.

Oliveira, J.R.A., Mendes, I.C., Vivaldi, L., 2001. Carbono da biomassa microbiana em solos de cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo: avaliação dos métodos fumigação-incubação e fumigação-extração. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, 25, 863-871.

Pandey, D., Agrawal, M., Bohra, J.S., 2014. Effects of conventional tillage and no tillage permutations on extracellular soil enzyme activities and microbial biomass under rice cultivation. *Soil Till. Res.* 136, 51-60.

Powlson, D.S., Brookes, P.C., Christensen, B.T., 1987. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biol Biochem.* 19, 159-164.

Rachid, C.T.C.C., Piccolo, M.C., Leite, D.C.A., Balieiro, F.C., Coutinho, H.L.C., Elsas, J.D.V., Peixoto, R.S., Rosado, A.S., 2012. Physical-chemical and microbiological changes in Cerrado Soil under differing sugarcane harvest management systems. *BMC Microbiol.* 12, 170-181.

Reis Júnior, F.B., Mendes, I.C., 2007. *Biomassa microbiana do solo*. Planaltina, Embrapa Cerrados, pp. 9-33.

Ralisch, R., Almeida, E., Silva, A.P., Pereira Neto, O.C., Guimarães, M.F., 2010. Morphostructural characterization of soil conventionally tilled with mechanized and animal traction with and without cover crop. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 34, 1795-1802.

Rejsek, K.P., Formanek, P., Pavelka, M., 2008. Estimation of protease activity in soils at low temperatures by casein amendment and with substitution of buffer by demineralized water. *Amino Acids*, 35, 411-417.

Rodrigues, J.L.M., Pellizari, V.H., Mueller, R., Baek, K., Jesus, E.d.C., Paula, F.S., Mirza, B., Hamaoui, G.S., Tsai, S.M., Feigl, B., Tiedje, J.M., Bohannon, B.J.M., Nusslein, K., 2013. Conversion of the Amazon rainforest to agriculture results in



biotic homogenization of soil bacterial communities. P. Natl. Acad. Sci. USA. 110, 988-993.

Roldan, A., Salinas-García, J.R., Alguacil, M.M., Caravaca, F., 2005. Changes in soil enzyme activity, fertility, aggregation and C sequestration mediated by conservation tillage practices and water regime in a maize field. Appl. Soil Ecol. 30, 11-20.

Sage, R.F., 2004. The evolution of C4 photosynthesis. New Phytol. 161, 341-37.

Sano, E.E., Rosa, R., Brito, J.L.S., Ferreira, L.G., 2010. Land cover mapping of the tropical savanna region in Brazil. Environmental Monitoring Assessment. 166, 113-124.

Sicardi, M., Garcia-Prechac, F., Frioni, L., 2004. Soil microbial indicators sensitive to land use conversion from pastures to commercial *Eucalyptus grandis* (Hill ex Maiden) plantations in Uruguay. Appl. Soil Ecol. 27: 125-133.

Sigmaplot – Exact Graphs and Data Analysis (Systat Software, San Jose, Califórnia).

Silva, S.A.F., 2009. The ASSISTAT software: statistical assistance. Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba.

Silva, C.F., Pereira, M.G., Miguel, D.L., Feitoria, J.C.F., Loss, A., Menezes, E.G.,

Silva, E.M.R., 2012. Total organic carbon, microbial biomass and soil enzyme activity

areas of agriculture, forestry and grassland in the middle Valley of Paraíba do Sul river (RJ). *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 36, 1680-1689.

Souza, A.P.; Gaspar, M.; Silva, E.A.; Ulian, E.C.; Waclawosky, A.J.; Nishiyama Jr., M.Y.; Santos, R.V.; Teixeira, M.M.; Souza, G.M.; Buckeridge, M.S., 2008. Elevated CO<sub>2</sub> increases photosynthesis, biomass and productivity, and modifies gene expression in sugarcane. *Plant Cell Environ.* 31, 1116-1127.

Soil Survey Staff, 2014. *Keys to Soil Taxonomy*. Twelveth ed. USDA-Natural Resources Conservation Service, Washington, DC.

Toledo, L.O., Pereira, M.G., Menezes, C.E.G. et al., 2002. Litter production and minerals transfer on secondary forests in pinheiral region (Rio de Janeiro State). *Rev. Cien. Fl.* 12, 9-16.

Treseder, K.K., 2008. Nitrogen additions and microbial biomass: a meta-analysis of ecosystem studies. *Ecol. Lett.* 11, 1111-1120.

Vepsäläinen, M., Kukkonen S., Vestberg, M., Sirviö, H., Niemi, R.M., 2001. Application of soil enzyme activity test kit in a field experiment. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1665-1672.

Vihinen, M, Mäntsälä, P. 1989. Microbial amylotic enzymes. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 24, 329-418.

Vranova, V., Rejsek, K., Formanek, P., 2013. Proteolytic activity in soil: A review. *Appl. Soil Ecol.* 70, 23-32.

Weintraub, M.N., Schimel, J.P., 2005. Seasonal protein dynamics in Alaskan arctic tundra soils. *Soil Biol. Biochem.* 37, 469-1475.

Wright, S.F., Green, V.S., Cavigelli, M.A., 2007. Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems. *Soil Till. Res.* 94, 546–549.

Zhang, Q., Zhou, W., Liang, G., Sun, J., Wang, X., He, P., 2015. Distribution of soil nutrients, extracellular enzyme activities and microbial communities across particle-size fractions in a long-term fertilizer experiment. *Appl. Soil Ecol.* 94, 59-71.

Zhang Y.L., Chen L.J., Sun C.X., Wu Z.J., Chen Z.H., Dong G.H. 2010. Soil hydrolase activities and kinetic properties as affected by wheat cropping systems of Northeastern China. *Plant Soil Environ.* 56, 526-532.

Zhu, B., Gutknecht, J.L.M., Herman, D.J., Keck, D.C., Firestone, M.K., Cheng, W., 2014. Rhizosphere priming effects on soil carbon and nitrogen mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 76, 183-192.

## Material suplementar 1

Quadro 1: Classes de agroquímicos utilizados para adubação e controle de pragas nas áreas de cultivo de cana-de-açúcar, soja e milho em seis municípios do estado de Goiás, Brasil.

<b>Classe de agroquímico</b>	<b>Nome comercial</b>
Herbicida	Advance® Ancosar 720® Combine® DMA 806® Flumyzin® Provence® Sanson 40S® Zapp®
Fungicida	Glifosato® Mancozeb® Nativo®
Inseticida	Regent® 800WG®
Adubo	NPK Vinhaça Calcário Gesso Ureia

## Material suplementar 2

Tabela 1: Matriz de Correlação de Pearson indicando a associação entre diferentes variáveis químicas, biológicas e bioquímicas.

<b>Variáveis**</b>	<b>α</b>	<b>β</b>	<b>fosf</b>	<b>amino</b>	<b>prot</b>	<b>C<sub>mic</sub></b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Ca</b>	<b>NT</b>	<b>COT</b>
<b>α</b>												
<b>β</b>	0,9742 <sup>†</sup>											
<b>fosf</b>	0,6783	0,5467										
<b>amino</b>	0,1262	-0,0425	0,8125									
<b>prot</b>	-0,4152	-0,5063	-0,4739	-0,2482								
<b>C<sub>mic</sub></b>	0,9084	0,8638	0,8808	0,4555	-0,6563							
<b>P</b>	0,4869	0,5919	-0,3067	-0,7888	0,1160	0,1079						
<b>K</b>	-0,5772	-0,7435	-0,0623	0,4198	0,7171	-0,5079	-0,5981					
<b>Mg</b>	0,6452	0,5736	0,9467	0,7435	-0,7297	0,9039	-0,3202	-0,2817				
<b>Ca</b>	0,8484	0,9301	0,4829	-0,0547	-0,7672	0,8345	0,4684	-0,8971	0,6257			
<b>NT</b>	0,8206	0,7957	0,8693	0,4969	-0,7844	0,9796 <sup>†</sup>	-0,0093	-0,5434	0,9471 <sup>†</sup>	0,8387		
<b>COT</b>	0,6935	0,6347	0,9337	0,6861	-0,7566	0,9965 <sup>††</sup>	-0,2455	-0,3557	0,9310	0,6881	0,9703 <sup>†</sup>	
<b>MO</b>	0,6766	0,6212	0,9260	0,6874	-0,7709	0,9966 <sup>††</sup>	-0,2606	-0,3593	0,9224	0,6850	0,9674 <sup>†</sup>	0,99955 <sup>††</sup>

<sup>††</sup> Valores de  $r^2$  ao nível de significância de 1%. <sup>†</sup> Valores de  $r^2$  ao nível de significância de 5%. Tais resultados indicam relação significativa entre as variáveis analisadas.

\*\*α: alfa glicosidase, β: beta glicosidase, fosf: fosfatase ácida, amino: glicina aminopeptidase, prot: protease, C<sub>mic</sub>: carbono da biomassa microbiana, P: fósforo, K: potássio, Mg: magnésio, Ca: cálcio, NT: nitrogênio total, COT: carbono orgânico total, MO: matéria orgânica.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente estudo mostrou reduções em atributos químicos e bioquímicos, como matéria orgânica, carbono orgânico total, nitrogênio total e carbono da biomassa microbiana em solos agrícolas, em comparação com solos de Cerrado. Os resultados também revelaram que a atividade de hidrolases relacionadas ao ciclos de carbono, nitrogênio e fósforo comportaram-se de forma distinta e é afetada pelo tipo de cobertura vegetal implantada no solo.

A atividade biológica foi mais intensa em solos com vegetação nativa do que em solos antropizados. Esses resultados demonstram que a substituição da vegetação nativa por sistemas agrícolas, tem ocasionado impactos no ecossistema solo e reforçam a importância da preservação de áreas nativas e a relevância da microbiota para a manutenção da qualidade do solo.

A implantação de culturas anuais, aliado ao sistema de plantio direto e rotação de culturas, quando comparados a culturas perenes, são mais viáveis ao solo, visto que, propiciaram melhores condições para o funcionamento bioquímico e conseqüentemente maior atividade biológica do mesmo. Sendo assim, pode ser que esse tipo de cultura contribua de forma positiva para a ciclagem de nutrientes no solo, podendo promover ganhos em fertilidade para a agricultura. Por outro lado, sistemas de monoculturas interferem negativamente nos atributos do solo e podem promover degradação do mesmo.

Finalmente, é possível notar que as enzimas foram sensíveis às variações e refletiram às transformações geradas pela ação antrópica. Esse fato é importante pois essas enzimas podem indicar de forma precoce o estado de conservação do solo. Sendo assim, as hidrolases podem ser úteis no monitoramento da qualidade desses ecossistemas e podem ser apontadas como bons indicadores de qualidade do solo.

## REFERÊNCIAS

- Acosta-Martinez, V., Moore-Kucera, J., Cotton, J., Gardner, T., Wester, D., 2014. Soil enzyme activities during the 2011 Texas record drought/heat wave and implications to biogeochemical cycling and organic matter dynamics. *Appl. Soil Ecol.* 75, 43-51.
- Allison, S.D., Nielsen, C., Hughes, R.F., 2006. Elevated enzyme activities in soils under the invasive nitrogen-fixing tree *Falcataria moluccana*. *Soil Biol. Biochem.* 38, 1537–1544.
- Allison, V.J., Condon, L.M., Peltzer, D.A., Richardson, S.J., Turner, B.L., 2007. Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence. *Soil Biol. Biochem.* 39, 1770-1781.
- Alkorta, I., Aizpurua, A., Riga, P., Albizu, I., Amézaga, I., Garbisu, C., 2003. Soil enzyme activities as biological indicators of soil health. *Rev. Environ. Health.* 18, 65-73.
- Almeida, R.F., Naves, E.R., Mota, R.P., 2015. Soil quality: enzymatic activity of soil  $\beta$ -glucosidase. *Global J. Agr. Res. Rev.* 3, 146-150.
- Alvarenga, M.I.N., Sousa, J.A., 1998. Atributos do solo e o impacto ambiental. Primeira edição, Lavras, UFLA/FAEPE, 205p.
- Antoniuzzi, L.B., 2008. Agricultura como provedora de serviços ambientais para proteção de bacias hidrográficas. *Rev. Tec. Inov. Agrop.* 1, 52-63.
- Araújo, A.S.F., Monteiro, R.T.R., 2007. Indicadores biológicos de qualidade do solo. *Biosci. J.* 23, 66-75.
- Azevedo, A.C., Dalmolin, A.C., 2006. Solos e Ambiente: uma introdução. Santa Maria, Pallotti, 100p.
- Barrett, A.J., Rawlings, N.D., O'brien, E.A., 2001. The MEROPS database as a peptidase information system. *J. Struct. Biol.* 134, 95-102.
- Bayer, C., Mielniczuk, J., 1997. Características químicas do solo afetadas por métodos de preparo e sistemas de cultura. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 21, 105-112.
- Benedetti, A., Dilly, O., 2006. Approaches to defining monitoring, evaluating and managing soil quality. in: Bloem, J., Hopkins, D.W., Benedetti, A. (Eds), *Microbial methods for assessing soil quality*. CABI Publishing, Oxfordshire, U.K., pp. 3-15
- Braimoh, A.K., Vlek, P.L.G., 2008. Land use and soil resources. London, Springer, 1-10.
- Brookes, P.C., 1995. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biol. Fert. Soils.* 19, 269-279.

Burns, R.G., Nannipieri, P., Benedetti, A., Hopkins, D.W., 2006. Defining soil quality, in: Bloem, J., Hopkins, D.W., Benedetti, A. (Eds), Microbial methods for assessing soil quality. Wallingford, CABI International, pp. 15-22.

Caldwell, B.A., 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia*. 49, 637-644.

Cardoso, E.J.B.N., Vasconcellos, R.L.F., Bini, D., Miyauchi, M.Y.H., Santos, C.A., Alves, P. R.L., Paula, A.M., Nakatani, A.S., Pereira, J.M., Nogueira, M.A., 2013. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health? *Sci. Agric*. 70, 274-289.

Carneiro, M.A.C., Assis, P.C.R.; Melo, L.B.C.; Pereira, H.S. Paulino, H.B.; Neto, A.N.S., 2009. Atributos bioquímicos em dois solos do cerrado sob diferentes sistemas de manejo e uso. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*. 33, 147-157.

Coelho, M.R. Fidalgo, E.C.C., Santos, H.G., Brefin, M.L.M.S., Perez, D.V., 2013. Solos: tipos, suas funções no ambiente, como se formam a sua relação com o crescimento das plantas. In: Moreira, F.M.S., Cares, J.E., Zanerri, R.O. *Ecosistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal*. Lavras, Editora UFLA, pp. 31-45.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento, 2015a. Acompanhamento da Safra Brasileira cana-de-açúcar. Safra 2015/2016. Segundo levantamento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento, 2015b. Acompanhamento da Safra Brasileira Grãos. Safra 2015/16, Décimo segundo levantamento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>

D'Andreia, A.F. Silva, M.L.N., Curi, N., Siqueira, J.O., Carneiro, M.A.C., 2002. Atributos biológicos indicadores de qualidade de solo em sistemas de manejo na região do Cerrado no sul do estado de Goiás. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*. 26, 913-923.

D'Andrea, A.F., Silva, M.L.N., Curi, N., Guilherme, L.R.G, 2004. Estoque de carbono e nitrogênio e formas de nitrogênio mineral em um solo submetido a diferentes sistemas de manejo. *Pesq. Agrop. Bras*. 39, 179-186.

Dick, R.P., Breackwell, D.P., Turco, R.F., 1996. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators, in: Doran, J.W., Jones, A.J. (Eds.), *Methods for assessing soil quality*. Madison, SSSA (SSSA Special Publication, 49), p. 247-271.

Doran, J.W., 2002. Soil health and global sustainability: translating science into practice, *Agr. Ecosyst. Environ*. 88, 119–127.

Doran, J.W., Parkin, T.B., 1994. 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.



Doran, J.W., Zeiss, M.R., 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Appl. Soil Ecol.* 15, 3-11.

Eivazi, F., Tabatabai, M.A. 1988. Glucosidases and galactosidase in soils. *Soil Biol. Biochem.* 20, 601-606.

Esen, A., 1993. Glucosidases: overview, in: Esen, A. (Eds.), *Glucosidases and Molecular Biology*. Washington, American Chemical Society, p. 9-17.

Fernández, M.T.H., Izquierdo, C.G., Stamford N.P., Moreno, M.C.M., 2008. Enzimas que actúan en la materia orgánica del suelo, in: Figueiredo, M.V.B., Burity, H.A., Stamford, N.P., Santos, C.E.R.S. (Eds.), *Microrganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura*. Guaíba: Agrolivros, p. 361-372.

Ferreira, M.M., Dias-Júnior, M.S., 2001. *Física do solo*. Lavras, UFLA/FAEPE, 117p.

Franchini, J.C., Crispino, C.C., Souza, R.A., Torres, E., Hungria, M., 2007. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in Southern Brazil. *Soil Till. Res.* 92, 18-29.

Geisseler, D., Scow, K.M., 2014. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms-A review. *Soil Biol. Biochem.* 75, 54-63.

Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Léiros, M.C., Seoane, S., 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biol. Biochem.* 877-887.

Godfray, H.C.J., 2010. Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science.* 327, 812-818.

Gomes, M.A.F., Filizola, H.F., 2006. *Indicadores físicos e químicos de qualidade do solo de interesse agrícola*. Primeira edição. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente.

Grant, C.A., Platen, D.N.; Tomaziewicz, D.J.; Sheppard, S.C., 2001. A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. Piracicaba, ESALQ (Informações agrônômicas 95), p. 1-5.

Gregorich, E.G., Carter, M.R., Angers, D.A., Monreal, C.M., Ellert, B.H., 1994. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Can. J. Soil Sci.* 74, 367-385.

Hungria, M., Franchini, J.C., Brandão-Júnior, O., Kaschuk, G., Souza, R.A., 2009. Soil Microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. *App. Soil Ecol.* 42, 288-296.

Jakelaitis, A., Silva, A.A., Santos, J.B., Vivian, R., 2008. Qualidade da camada superficial de solo sob mata, pastagens e áreas cultivadas. *Pesq. Agrop. Trop.* 38, 118-127.

Kandeler, E., Palli, S., Stemmer, M., Gerzabek, M.H., 1999. Tillage changes, microbial biomass and enzyme activities in particle-size fractions of a Haplic Chernozem. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1253-1264.

Karlen, D. L., Mausbach, M. J., Doran, J. W., Cline, R. G., Harris, R. F., Schuman, G. E., 1997. Soil quality: a concept, definition and framework for evaluation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 4-10.

Karlen, D.L., Andrews, S.S., Wienhold, B.J., Zobeck, T.M., 2008. Soil Quality Assessment: past, present and future. *Electron. J. Integr. Biosc.* 6, 3-14.

Killham, K., Staddon, W.J., 2002. Bioindicators and sensors of soil health and the application of geostatistic. In: Burns, R.G., Dick, R.P. *Enzymes in the environment: activity, ecology and applications.* New York, Marcel Dekker, pp. 391-405.

Knoepp, J.D., Ferreira, E.P.B., Gonzaga, A.C.O., Barbosa, F.R., 2000. Biological indices of soil quality: An ecosystem case study of their use. *Ecol. Manag.* 138, 357-368.

Lacerda, K.A.P., Cordeiro, M.A.S., Verginassi, A., Salgado, F.H.M., Paulino, H.B., Carneiro, M.A.C., 2013. Organic carbon, biomass and microbial activity in an Oxisol under different management systems. *Rev. Ciênc. Agrárias.* 56, 249-254.

Maia, S.M.F., Ogle, S.M., Cerri, C.C., Cerri, C.E.P., 2010. Changes in soil organic carbon storage under different agricultural management systems in the Southwest Amazon Region of Brazil. *Soil Till. Res.* 106, 177-188.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2015. Projeções do Agronegócio: Brasil 2014/15 a 2024/25. Brasília, 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/ministerio/gestao-estrategica/projecoes-do-agronegocio>.

Matson, P.A., Parton, W.J., Power, A.G., Swift, M.J., 1997. Agricultural Intensification and Ecosystem Properties. *Science.* 27, 504-509.

Matsuoka, M., 2006. Atributos biológicos de solos cultivados com videira na região da serra gaúcha (Tese). Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Matsuoka, M., Mendes, I.C., Loureiro, M.F., 2003. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 27, 425-433.

Mendes, I.C., Souza, L.V., Resck, D.V.S., Gomes, A.C., 2003. Propriedades biológicas em agregados de um Latossolo Vermelho-escuro sob plantio convencional e direto no Cerrado. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 27, 435-443.

Mendes, I.C., Vivaldi, L.A., Dinâmica da Biomassa e atividade microbiana em uma área sob mata de galeria na região do Distrito Federal, in: Ribeiro, J.F., Fonseca, C.E.L., Souza-Silva, J.C. (Eds), *Cerrado: caracterização e recuperação de matas de galeria.* Planaltina, Embrapa Cerrados, pp.665-687.

Mendes, I.C., Hungria, M., Reis Júnior, F.B., Fernandes, M.F., Chaer, G.M., Mercante, F.M., Zili, J.E., 2009. Biodindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade? Planaltina, Embrapa Cerrados, pp.9-25.

Miralles, I., Ortega, R., Almendros, G., Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Soriano, M., 2012. Modifications of organic matter and enzymatic activities in response to change in soil use in semi-arid mountain ecosystems (southern Spain). *Eur. J. Soil Sci.* 63, 272–283.

Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O., 2006. *Microbiologia e Bioquímica do solo*. Segunda edição. Lavras, Editora UFLA, pp.17-404.

Nahas, E., 1989. Control and localization of the phosphatases in conidia of *Neurospora crassa*. *Can. J. Microbiol.* 35, 830-835.

Nannipieri, P., Giagnoni L., Renella G., Puglisi E., Ceccanti B., Masciandaro G., 2012. Soil enzymology: classical and molecular approaches. *Biol. Fertil. Soils.* 48, 743-763.

Ndiaye, E.L., Sandeno, J.M., McGrath, D., Dick, R.P., 2000. Integrative biological indicators for detecting change in soil quality. *Am. J. Alter. Agric.* 15, 26-36.

Nogueira, M.A., Albino, U.B., Brandão-Junior, O., Braun, G., Cruz, M.F., Dias, B.A., Duarte, R.T.D., Gioppo, N.M.R., Menna, P., Orlandi, J.M., Raiman, M.P., Rampazo, L.G.L., Santos, M.A., Silva, M.E.Z., Vieira, F.P., Torezan, J.M.D., Hungria, M., Andrade, G., 2006. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. *Agric Ecosyst Environ.* 115, 237–247.

NRCS – Natural Resources Conservation Service, 2011a. Soil quality for environmental health. Disponível em: <http://soilquality.org/indicators.html>

NRCS – Natural Resources Conservation Service, 2011b. Soil pH. Disponível em: [http://soilquality.org/indicators/soil\\_ph.html](http://soilquality.org/indicators/soil_ph.html)

Okuyama, M., Okuno, A., Shimizu, N., Mori, H., Kimura, A., Chiba, S., 2001. Carboxyl group of residue Asp647 as possible proton donor in catalytic reaction of alphasglucosidase from *Schizosaccharomyces pombe*. *Eur. J. Biochem.* 268, 2270–2280.

Oldeman, L.R., 1994. The global extent of soil degradation, in: Greenland, D.J., Szabolcs, I. (Eds.), *Soil Resilience and sustainable land use*. Wallingford, CAB International, pp. 99-118.

Peixoto, F.G.T., 2010. *Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos do estado de São Paulo sob vegetação nativa e cultivados (Dissertação)*. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista.

Reis Júnior, F.B., Mendes, I.C., 2007. *Biomassa microbiana do solo*. Planaltina, Embrapa Cerrados, pp. 9-33.

Rosa, D., Sobral, R., 2008. Soil Quality and Methods for its Assessment, in: Braimoh, A.K., Vlek, P.L.G. (Eds), Land use and soil resources. London, Springer, 167-200.

Santos, D.R., Gatiboni, L.C., Kaminski, 2008. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo de adubação fosfatada em solos sob sistema de plantio direto. *Cienc. Rural*. 38, 576-586.

Santos, V.B., Castilhos, D.D., Castilhos, R.M.V., Pauletto, E.A., Gomes, A.S., Silva, D.G., 2004. Biomassa, atividade microbiana e teores de carbono e nitrogênio totais de um planossolo sob diferentes sistemas de manejo. *Rev. Bras. Agrociência*. 10, 333-338.

Schmitz, J.A.K., 2003. Indicadores Biológicos de qualidade do solo (Tese). Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Schloter, M., Dilly, O., Munch, J.C., Indicators for evaluating soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 98, 255-262.

Silva, E.T., Melo, W.J., 2004. Atividade de proteases e disponibilidade de nitrogênio para laranjeira cultivada em Latossolo Vermelho distrófico. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*. 28, 833-841.

Silva, C.F., Pereira, M.G., Miguel, D.L., Feitor, J.C., Loss, A., Menezes, C.E.G., Da Silva, E.M.R., 2012. Carbono orgânico total, biomassa microbiana e atividade enzimática do solo de áreas agrícolas, florestais e pastagem no médio Vale do Paraíba do Sul (RJ). *Rev. Bras. Ciênc. Solo*. 36, 1680-1689.

Siqueira, J.O., Moreira, F.M., Grisi, B.M., Hungria, M., Araújo, R.S., 1994. *Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental*. Brasília, Embrapa, pp. 10-77.

Stott, D.E., Andrews, S.S., Liebig, M.A., Wienhold, B.J., Karlen, D.L., 2010. Evaluation of  $\beta$ -glucosidase activity as a soil quality indicator for the soil management assessment framework. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 74, 107-119.

Štursová, M., Baldrian, P., 2011. Effects of soil properties and management on the activity of soil organic matter transforming enzymes and the quantification of soil-bound and free activity. *Plant Soil*. 338, 99-110.

Tabatabai, M.A., 1994. Soil enzymes, in: Weaver, R.W., Angle, J.S., Bottomley, P.S. (Eds.), *Methods of Soil Analysis: Microbiological and Biochemical Properties*. Part 2. SSSA Book Ser. 5. SSSA, Madison. p. 775-833.

Taylor, J.P., Wilson, B., Mills, M.S., Burns, R.G., 2002. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. *Soil Biol. Biochem.* 34, 387-401.

Tian, L., Dell, E., Shi, W., 2010. Chemical Composition of dissolved organic matter in agroecosystems: correlations with soil enzyme activity and carbon and nitrogen mineralization. *Appl. Soil Ecol.* 426-435.

Tótola, M. R.; Chaer, G. M., 2002. 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. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 195-276.

Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Gil-Sotres, F., 2000. Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate humid zone (Galicia, NW Spain): specific parameters. *Soil Biol. Biochem.* 32, 747-755.

Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Gil-Sotres, F., 2008. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for use as indicators of soil quality. *Soil Biol. Biochem.* 2146-2155.

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, S., Schippers, A., Meyer-Stüve, S., Guggenberger, G., Gentsch, N., Dohrmann, R., Condon, L. M., Eger, A., Almond, P. C., Peltzer, D. A., Richardson, S. J., Mikutta, R., 2014. Mineralogical impact on long-term patterns of soil nitrogen and phosphorus enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.* 68, 31-43.

USDA- NRCS (United States Department of Agriculture), 2001. Guidelines for Guidelines for Soil Quality Assessment in Conservation Planning in Conservation Planning – Introduction to soil quality. Disponível em: [http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/nrcs142p2\\_051259.pdf](http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_051259.pdf)

USDA – United States Department of Agriculture, 2008. Soil Quality Physical Indicators: Selecting Dynamic Soil Properties to Assess Soil Function. Soil Quality Technical Note, 10. Disponível em: [http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/nrcs142p2\\_050948.pdf](http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_050948.pdf)

USDA – United States Department of Agriculture, 2015. Soil Quality Indicators: Chemical Indicators and Soil Functions. Disponível em: [www.nrcs.usda.gov](http://www.nrcs.usda.gov)

Vihinen, M., Mäntsälä, P., 1989. Microbial amylolytic enzymes. *Critical Reviews Biochem. Mol. Biol.* 24, 329-418.

Vranova, V., Rejsek, K., Formanek, P., 2013. Proteolytic activity in soil: A review. *Appl. Soil Ecol.* 70, 3-32.

Wallace, K.J., 2007. Classification of ecosystem services: problems and solutions. *Biol. Conserv.* 39, 235-246.

Wallenius, K., Rita, H., Mikkonen, A., Lappi, K., Lindström, K., Hartikainen, H., Raateland, A., 2011. *Soil Biol. Biochem.* 1464-1473.

Zhang, Q., Zhou, W., Liang, G., Sun, J., Wang, X., He, P., 2015. Distribution of soil nutrients, extracellular enzyme activities and microbial communities across particle-size fractions in a long-term fertilizer experiment. *Appl. Soil Ecol.* 94, 59-71.

## LISTA DE APÊNCIDES

**APÊNCIDE A** - Análise de variância mostrando a influência de diferentes tipos de uso do solo e sazonalidade sobre a atividade das enzimas  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidades, fosfatase ácida, glicina aminopeptidase e protease.....79

**APÊNCIDE A** - Análise de variância mostrando a influência de diferentes tipos de uso do solo e sazonalidade sobre a atividade enzimática total.....79

**APÊNCIDE B** - Valores (média) da atividade enzimática  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida, glicina aminopeptidase e protease em solos de Cerrado nativo e solos submetidos ao cultivo de cana-de-açúcar, soja e milho em seis pontos de amostragem e dois períodos do ano.....80

**APÊNCIDE C** - Valores (média) de atividade enzimática total ( $\alpha$ -glicosidase,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e glicina aminopeptidase) em solos de Cerrado nativo e solos submetidos ao cultivo de cana-de-açúcar, soja e milho em seis pontos de amostragem e dois períodos do ano.....81

**APÊNCIDE D** - Resultado da análise de Correlação de Pearson indicando a relação entre as variáveis analisadas neste estudo.....82

## APÊNCIDE A

Tabela 1: Influência do tipo de uso do solo e sazonalidade sobre a atividade da enzima  $\alpha$ -glicosidase.

Variáveis	SQ	GL	QM	F	P
Tipo de uso do solo	688,7574	3	229,5858	3,7537	0,012516*
Período do ano	28,53220	1	28,53220	0,4665	0,495759
Período*Tipo de uso	153,4363	3	51,14545	0,8362	0,476209

\* significância de  $P < 0,05$ .

Tabela 2: Influência do tipo de uso do solo e sazonalidade sobre a atividade da enzima  $\beta$ -glicosidase.

Variáveis	SQ	GL	QM	F	P
Tipo de uso do solo	12562,788	3	4187,596	9,8744	0,00006*
Período do ano	137,45608	1	137,4560	0,3241	0,57034
Período*Tipo de uso	501,17031	3	167,0506	0,3939	0,75749

\* significância de  $P < 0,05$ .

Tabela 3: Influência do tipo de uso do solo e sazonalidade sobre a atividade da enzima fosfatase ácida.

Variáveis	SQ	GL	QM	F	P
Tipo de uso do solo	17311,5	3	5770,5	12,028	0,000000*
Período do ano	15789,6	1	15789,6	32,913	0,000000*
Período*Tipo de uso	2731,8	3	910,6	1,898	0,132859

\* significância de  $P < 0,05$ .

Tabela 4: Influência do tipo de uso do solo e sazonalidade sobre a atividade da enzima glicina aminopeptidase.

Variáveis	SQ	GL	QM	F	P
Tipo de uso do solo	19746,1	3	6582,044	6,8332	0,000253*
Período do ano	374804	1	374804,1	389,10	0,000000*
Período*Tipo de uso	12828,8	3	4276,299	4,4395	0,005208*

\* significância de  $P < 0,05$ .

Tabela 5: Influência do tipo de uso do solo e sazonalidade sobre a atividade da enzima protease.

Variáveis	SQ	GL	QM	F	P
Tipo de uso do solo	3,26816	3	1,08939	9,5026	0,00009*
Período do ano	0,86335	1	0,86335	7,5309	0,65489
Período*Tipo de uso	0,31439	3	0,10480	0,9141	0,06854

\* significância de  $P < 0,05$ .

Tabela 6: Influência do tipo de uso do solo e sazonalidade sobre atividade enzimática total.

Variáveis	Wilks	GL	F	P
Tipo de uso do solo	0,659017	4	552,17	0,00000*

\* significância de  $P < 0,05$ .



## APÊNDICE B

Tabela 1: Valores (média) de atividade enzimática de  $\alpha$ -glicosidase,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida, glicina aminopeptidase e protease em solos de Cerrado nativo e solos submetidos ao cultivo de cana-de-açúcar, soja e milho no estado de Goiás, Brasil.

Enzimas	Tipo de uso do solo			
	Cana	Soja	Milho	Cerrado
$\alpha$ -glicosidase	2,8 $\pm$ 5,1 <sup>b</sup>	5,6 $\pm$ 4,5 <sup>ab</sup>	8,4 $\pm$ 12,9 <sup>a</sup>	7,2 $\pm$ 6,1 <sup>ab</sup>
$\beta$ -glicosidase	37,7 $\pm$ 12,7 <sup>b</sup>	50,4 $\pm$ 20,7 <sup>a</sup>	63 $\pm$ 21 <sup>a</sup>	56,4 $\pm$ 25,1 <sup>a</sup>
Fosfatase ácida	68,7 $\pm$ 17 <sup>b</sup>	65,5 $\pm$ 18 <sup>b</sup>	78,2 $\pm$ 23,7 <sup>b</sup>	93,7 $\pm$ 34,9 <sup>a</sup>
Protease	0,4 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	0,2 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	0,36 $\pm$ 0,35 <sup>a</sup>	0,07 $\pm$ 0,15 <sup>c</sup>
Glicina aminopeptidase	68 $\pm$ 45,2 <sup>ab</sup>	53,8 $\pm$ 52 <sup>b</sup>	57,9 $\pm$ 52,8 <sup>b</sup>	84,2 $\pm$ 70,2 <sup>a</sup>

Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre os diferentes tipos de uso do solo (ANOVA e teste de Tukey, considerando  $p < 0,05$ ).

## APÊNCIDE C

Tabela 2: Atividade enzimática total ( $\alpha$ -glicosidase,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e glicina aminopeptidase) em solos de Cerrado nativo e solos submetidos ao cultivo de cana-de-açúcar, soja e milho no estado de Goiás, Brasil.

<b>Tipo de uso do solo</b>			
<b>Cana</b>	<b>Soja</b>	<b>Milho</b>	<b>Cerrado</b>
52,3±37,5 <sup>c</sup>	49±41 <sup>c</sup>	57,3±69,9 <sup>b</sup>	69,9±55,3 <sup>a</sup>

Diferentes letras minúsculas representam variações significativas entre diferentes tipos de uso do solo ( $p < 0.05$ , MANOVA e teste de T<sup>2</sup> Hotteling).

## APÊNDICE D

Tabela 1: Matriz de Correlação de Pearson indicando a associação entre diferentes variáveis químicas, biológicas e bioquímicas.

<i>Variáveis**</i>	$\alpha$	$\beta$	fosf	amino	prot	C <sub>mic</sub>	P	K	Mg	Ca	NT	COT
$\alpha$												
$\beta$	0,0258*											
fosf	0,3216	0,4532										
amino	0,8737	0,9575	0,1875									
prot	0,5848	0,4937	0,5261	0,7518								
C <sub>mic</sub>	0,0915	0,1362	0,1192	0,5445	0,3436							
P	0,5131	0,4081	0,6932	0,2112	0,8840	0,8921						
K	0,4228	0,2564	0,9377	0,5801	0,2828	0,4920	0,4019					
Mg	0,3547	0,4263	0,0533	0,2564	0,2703	0,0960	0,6797	0,7182				
Ca	0,1516	0,0698	0,5170	0,9453	0,2328	0,1655	0,5315	0,1029	0,3743			
NT	0,1794	0,2042	0,1307	0,5030	0,2155	0,0203*	0,9906	0,4565	0,0529*	0,1612		
COT	0,3064	0,3653	0,0663	0,3139	0,2434	0,0035*	0,7545	0,6443	0,0689	0,3118	0,0296*	
MO	0,3233	0,3788	0,0739	0,3125	0,2290	0,0034*	0,7393	0,6407	0,0775	0,3150	0,0325*	0,0004*

\*Valores de p ao nível de significância de 5%. Tais resultados indicam relação significativa entre as variáveis analisadas.

\*\* $\alpha$ : alfa glicosidase,  $\beta$ : beta glicosidase, fosf: fosfatase ácida, amino: glicina aminopeptidase, prot: protease, C<sub>mic</sub>: carbono da biomassa microbiana, P: fósforo, K: potássio, Mg: magnésio, Ca: cálcio, NT: nitrogênio total, COT: carbono orgânico total, MO: matéria orgânica.