

**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E QUALIDADE  
AMBIENTAL**

**MARCOS VILELA DE MOURA LEITE**

**ATIVIDADE E MODELAGEM DE FOSFATASE DO SOLO COMO  
INDICADORES EM AGROECOSSISTEMAS NO CERRADO**

**UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2017**

**MARCOS VILELA DE MOURA LEITE**

**ATIVIDADE E MODELAGEM DE FOSFATASE DO SOLO COMO  
INDICADORES EM AGROECOSSISTEMAS NO CERRADO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental – Mestrado, área de concentração em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

**Prof. Dr. Adão de Siqueira Ferreira**  
(Orientador)

**Prof. Dr. Lucas Carvalho Basílio de Azevedo**  
(Co-orientador)

**UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

L533a      Leite, Marcos Vilela de Moura, 1963  
2018      Atividade e modelagem de fosfatase do solo como indicadores em  
agroecossistemas no cerrado / Marcos Vilela de Moura Leite. - 2017.  
43f. : il.

Orientador: Adão de Siqueira Ferreira.

Coorientador: Lucas Carvalho Basílio de Azevedo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.1306>

Inclui bibliografia.

1. Qualidade Ambiental - Teses. 2. Fosfatase ácida - Teses. 3. solos -  
Teses. 4. Cinética enzimática - Teses. I. Ferreira, Adão de Siqueira. II.  
Azevedo, Lucas Carvalho Basílio de. III. Universidade Federal de  
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental. IV.  
Título.

---

CDU: 574

MARCOS VILELA DE MOURA LEITE

ATIVIDADE E MODELAGEM DE FOSFATASE DO SOLO COMO INDICADORES  
EM AGROECOSSISTEMAS NO CERRADO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental – Mestrado, área de concentração em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 29 de Agosto de 2017.

Prof. Dr. Lucas Carvalho Basílio de Azevedo  
(Co-orientador)

UFU

Profa. Dra. Maria Rita de Cássia Campos

UFG

Prof. Dr. Adão de Siqueira Ferreira  
ICIAG - UFU  
(Orientador)

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2017

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho...*

***aos meus pais:** João Foch de Moura Leite e Celisa Vilela de Moura Leite que dedicaram suas vidas com muito trabalho e luta para nos dar educação, na maioria das vezes sob o sol escaldante ou sob as chuvas de verão, lavrando a terra, plantando, colhendo, ensinando, alfabetizando, catequizando e sempre me mostrando o caminho do bem a seguir;*

***aos meus irmãos,** Hélcio & Adriana, João Foch Jr. & Marisa, Isa Maria & Dailzo, Maria Inez & Manuel e André nos quais me espelhei pela busca do conhecimento, todos formados e cada um na sua especialidade.*

***aos meus sobrinhos,** Fernando, Flávia, Carina, Ana Carolina, Pedro Henrique, Patrícia, Thais, Lígia, Esron Jr., Maiara, Renato; Giovana e Helena;*

***aos familiares** Paulo & Vera, Dimas & Norma, Valter & Zilda, Esron & Leide, Nancy, Roberto, Raul, Lucas & Tatiane; Diogo, e a toda Família Vilela e Família Moura Leite;*

*...e finalmente dedico este trabalho com muito amor e carinho à minha querida **família**, Cleide Aparecida Freitas, Beatriz Freitas Vilela de Moura Leite e Raquel Freitas Vilela de Moura Leite que são o motivo que me leva a lutar pelos nossos sonhos, e a ter fé em Deus.*

*Amo vocês!*

.....

*Enfim Mestre! Valeu GORDO!*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, os seus anjos e santos que não cessam de interceder por mim e minha família, e que me dão a cada dia, o sopro da vida com as bênçãos de saúde, paz, discernimento e coragem para vencer este enorme desafio.

Agradeço todos os professores especialmente o Prof. Dr. Adão de Siqueira Ferreira pela orientação em todos os momentos do meu trabalho, pela sua dedicação, pela sua paciência e sabedoria na condução firme dos processos e procedimentos, sua capacidade de entendimento das dificuldades inerentes para o aprendizado foram fundamentais neste estudo. Ganhei o prêmio maior sendo um dos seus orientados. Agradeço também ao Prof. Dr. Lucas Carvalho Basílio de Azevedo pela co-orientação durante todo este trabalho de pesquisa.

Agradeço ao Colégio Educação – Nacional de Ituiutaba, de modo muito especial ao meu chefe e amigo João Manoel Franco e sua estimada esposa Arlete Pereira Franco e a minha querida coordenadora Katiúcia Pereira Franco que sempre incentivaram os seus funcionários à qualificação, ao aperfeiçoamento e nunca mediram esforços para me liberar nos dias de aula, de provas e de pesquisas. Sem a compreensão de vocês seria impossível a conclusão dessa importante etapa da minha vida.

Agradeço de forma muito afetuosa as minhas estimadas amigas, Elaine Souza Costa pela atenção, paciência, carinho e dedicação comigo nos estudos, nas correções de texto, nos equipamentos emprestados e nas aulas de formatação, até então, novos para mim, e a Neila Cristina Freitas Maia, mentora e incentivadora ferrenha deste aprendizado, que com sua luz e enorme sabedoria soube, nos momentos certos, me trazer a paz necessária para continuar os estudos (mesmo que para isso, tivesse que vender algo ..... rrsrs).

Agradeço ao Marco Aurélio de Oliveira, pelas madrugadas na rodovia. Tenho uma enorme admiração pela sua conduta, postura, experiência e discernimento com as dificuldades da vida. Você é o cara!!! Isso ainda vai dar livro .....

Aos colegas de mestrado, obrigado pela parceria, pelas horas de conversas fora de hora (né Adriana Mendes Pereira), um abraço carinhoso a todos.

Ao amigo trilheiro Fábio (Xalé Lanches) um abraço especial pela amizade e companheirismo ao longo destes anos, um beijo para toda família Tittoto (Sra Aparecida Rosa e Cesar) e um abraço ao Lafaete Oscar dos Reis Neto. Obrigado pelo carinho.

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	i
Lista de Figuras	ii
Lista de Tabelas	iii
Resumo	iv
Abstract	v
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO GERAL .....</b>	<b>2</b>
2.1 Ecosistemas do Cerrado.....	2
2.2. O solo.....	4
2.3. Indicadores de qualidade do solo .....	5
2.4. O fósforo no solo.....	8
2.5. Fosfatase no solo .....	11
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
3.1 Área da Pesquisa .....	15
3.2. Coleta do solo.....	16
3.2. Caracterização Físico-Químico do solo .....	16
3.3. Indicadores Microbianos do solo .....	17
3.4. Atividade da Fosfatase .....	17
3.5. Cinética e modelo de isoformas de fosfatase do solo .....	17
3.6. Análise Estatística .....	18
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>18</b>
4.1 Análise das características químicas e microbianas.....	18
4.2. Modelagem da atividade da fosfatase no solo.....	21
4.3. Correlação de indicadores de qualidade do solo e o $K_m$ .....	26
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>27</b>
5.1 Indicadores da qualidade do solo .....	27

5.2.	Modelagem dos parâmetros cinéticos da atividade da fosfatase no solo .....	28
5.3.	Correlação de indicadores de qualidade do solo e $K_m$ .....	29
5.4.	Ecosistemas e profundidade do solo .....	30
<b>6.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>31</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>32</b>



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$Al^{3+}$	Alumínio
ANOVA	Análise de Variância
ATP	Adenosina Trifosfato
$Ca^{2+}$	Cálcio
CBM	Carbono da Biomassa Microbiana
$CO_2$	Dióxido de Carbono
COS	Carbono Orgânico do solo
COT	Carbono Orgânico Total
DHA	Desidrogenase do solo
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
$Fe^{3+}$	Ferro
K	Potássio
$K_m$	Constante de Afinidade
M	Molar
$Mg^{2+}$	Magnésio
MOS	Matéria Orgânica do solo
n	Número de Amostras
NaOH	Hidróxido de Sódio
NBM	Nitrogênio da biomassa Microbiana
NT	Nitrogênio Total
°C	Graus Celsius
P	Fósforo
Pi	Fósforo Inorgânico
$P_{org}$	Fósforo Orgânico
p-NP	p-Nitrofenol
p-NPP	p-Nitrofenol Fosfato
$PO_4^{-2}$	íon Fosfato
S	Substrato
[S]	Concentração de Substrato
$qCO_2$	Quociente Metabólico
$Q_{mic}$	Quociente Microbiano
$R^2$	Coefficiente de Regressão
RMS	Respiração Microbiana do solo
CV	Coefficiente de Variação
V	Taxa de liberação de p-NP
$V_{max}$	Máxima atividade da fosfatase

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Resposta da atividade de fosfatase no solo em função da concentração de substrato em diferentes ecossistemas do Cerrado na profundidade de 0-5 cm. Os símbolos que identificam os respectivos ecossistemas referem-se as repetições dos ensaios das amostras de campo. ....22
- Figura 2: Resposta da atividade de fosfatase no solo em função da concentração de substrato em diferentes ecossistemas do Cerrado na profundidade de 5-10 cm. Os símbolos que identificam os respectivos ecossistemas referem-se as repetições dos ensaios das amostras de campo. ....22
- Figura 3: Resultados da Cinética de Eadie-Hofstee, nos tratamentos cerradão (A), pinus (B), soja (C) e cana (D) para a profundidade de 0-5 cm. Em cada sistema é apresentado as equações definido pelo modelo Eadie-Hofstee, coeficiente de regressão ( $R^2$ ), coeficiente de variação (CV) e o número de amostras (n). Os valores dos parâmetros cinéticos seguido pelo asterisco (\*) indicam uma significância menor que 1% pelo teste “t”. ....24
- Figura 4: Resultados da Cinética de Eadie-Hofstee, nos tratamentos cerradão (A), pinus (B), soja (C) e cana (D) para a profundidade de 5-10 cm. Em cada sistema é apresentado as equações definido pelo modelo Eadie-Hofstee, coeficiente de regressão ( $R^2$ ), coeficiente de variação (CV) e o número de amostras (n). Os valores dos parâmetros cinéticos seguido pelo asterisco (\*) indicam uma significância menor que 1% pelo teste “t”. ....25

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Áreas de estudo com as coordenadas geográficas, altitude e textura do solo.....15
- Tabela 2: Valores das propriedades físicas e químicas do solo analisados em duas profundidades e em diferentes agroecossistemas no Cerrado.....19
- Tabela 3: Indicadores microbianos do solo em duas profundidades e diferentes ecossistemas no Cerrado. ....20
- Tabela 4: Equação de regressão de Michaelis-Menten em função de diferentes ecossistemas e profundidades no Cerrado. ....23
- Tabela 5: Resultados de  $K_m$  por Michaelis-Menten e por Eadie-Hofstee em função de diferentes ecossistemas e profundidades no Cerrado.....26
- Tabela 6: Correlação de Pearson ( $r$ ) dos valores de  $K_m$  com os indicadores do solo. ....26

MOURA LEITE, MARCOS VILELA. **Atividade e modelagem de fosfatase do solo como indicadores em agroecossistemas no cerrado.** 2017. 43p. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG<sup>1</sup>

## RESUMO

A fosfatase do solo é um indicador primário da qualidade do solo e sua atividade desempenha um papel fundamental na produtividade dos ecossistemas terrestres. Modelar os parâmetros cinéticos da fosfatase do solo é importante para entender os processos ecológicos em solos tropicais em diferentes ecossistemas de uso da terra. O objetivo deste estudo foi determinar os parâmetros cinéticos da fosfatase ácida do solo em camadas superficiais (nas profundidade de 0-5 cm e 5-10 cm) de um Latossolo sob os ecossistemas de Cerrado nativo, pinus, soja e cana. A atividade da fosfatase ácida do solo foi realizada com diferentes concentrações de substrato (0, 0.5, 1, 2, 4, 8 e 16  $\mu\text{mol}$  de fosfato de p-nitrofenol) a 37°C, pH 6,5 e tampão acetato. Os parâmetros cinéticos ( $V_{\text{max}}$  e  $K_m$ ) foram estimados usando equações de Michaelis-Menten e Eadie-Hofstee. O carbono orgânico do solo (COT), nitrogênio total (NT), respiração microbiana do solo (RMS), carbono da biomassa microbiana (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) e atividade da desidrogenase também foram medidos. Em ambos os modelos, os maiores valores de  $V_{\text{max}}$  e  $K_m$  foram encontrados em solo de Cerradão, seguido pelo solo de pinus nas duas camadas testadas. Os solos de soja e cana apresentaram valores de  $K_m$  baixos, mostrando uma grande afinidade da fosfatase por substrato do solo nestes ecossistemas. O modelo de Michaelis-Menten estimou valores  $V_{\text{max}}$  e  $K_m$  mais elevados do que o modelo Eadie-Hofstee. O modelo de Michaelis-Menten não mostrou diferença de  $K_m$  entre as duas camadas de ecossistemas, mas o modelo de Eadie-Hofstee revelou diferenças significativas entre as camadas com os valores menores de  $K_m$  na camada de 5-10 cm. Os resultados revelaram que o  $K_m$  possui uma correlação significativa com COT ( $r > 0,71$ ), NT ( $r > 0,72$ ), CBM ( $r > 0,75$ ) e NBM ( $r > 0,75$ ). Os resultados também mostraram uma maior correlação entre o modelo de  $K_m$  de Eadie-Hofstee e indicadores de qualidade do solo do que o modelo de Michaelis-Menten, sugerindo que o modelo de Eadie-Hofstee pode mostrar uma melhor relação entre os processos ecológicos do solo. Nosso estudo mostra a importância da modelagem da fosfatase ácida do solo no Cerrado brasileiro em relação aos ecossistemas de uso da terra, profundidades e modelo aplicado.

**Palavras-chave:** parâmetros cinéticos de fosfatase ácida, sistemas de uso da terra, profundidades do solo, modelos Michaelis-Menten e Eadie-Hofstee.

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: Adão de Siqueira Ferreira-UFU e Lucas Carvalho Basílio de Azevedo-UFU

MOURA LEITE, MARCOS VILELA. **Activity and modelling of soil phosphatase as indicators in agroecosystems in the Brazilian Cerrado.** 2017. 43p. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Soil phosphatase is a primary indicator of soil quality and its activity plays a key role on productivity of terrestrial ecosystems. Modelling the kinetic parameters of soil phosphatase is central to integrate ecological processes in tropical soils under different land use ecosystems. The goal of this study was to determine kinetic parameters of acid soil phosphatase in surface layers (depth at the 0-5cm and 5-10 cm) from an Oxisol under the Cerradão, pine, soya and sugarcane ecosystems. Acid soil phosphatase activity was performed with different substrate concentrations (0, 0.5, 1, 2, 4, 8 and 16  $\mu\text{mol}$  of p-nitrophenol phosphate) at 37°C, pH 6.5 and acetate buffer. The kinetic parameters ( $K_m$  and  $V_{\text{max}}$ ) were estimated using Michaelis-Menten and Eadie-Hofstee equations. Soil organic carbon (SOC), total nitrogen (TN), soil microbial respiration (SMR), microbial biomass carbon (MBC) and microbial biomass nitrogen (MBN), and dehydrogenase activity were also measured. In both models, the highest  $V_{\text{max}}$  and  $K_m$  values were found in native Cerrado soil, following the pine soil in two surface layers. Soya and sugarcane soils presented low  $K_m$  values, showing a great substrate affinity of soil phosphatase in these ecosystems. Michaelis-Menten model estimated higher  $V_{\text{max}}$  and  $K_m$  values than Eadie-Hofstee model. Michaelis-Menten model did not show no difference of  $K_m$  between two layers of ecosystems, but Eadie-Hofstee model revealed significant differences between layers as the least  $K_m$  values at the 5-10 cm. Results revealed that  $K_m$  has a significant correlation with SOC ( $r > 0.71$ ), TN ( $r > 0.72$ ), MBC ( $r > 0.75$ ) and MBN ( $r > 0.75$ ). Results also showed a greater correlation between  $K_m$  of Eadie-Hofstee model and soil quality indicators than Michaelis-Menten model, suggesting that Eadie-Hofstee model may improve the relationship between soil ecological processes. Our study shows the importance of modelling the acid soil phosphatase in the Brazilian Cerrado in relation to land use ecosystems, depths and model applied.

**Keywords:** kinetic parameters of acid phosphatase, land use systems, soil depths, Michaelis-Menten and Eadie-Hofstee models.

---

<sup>2</sup>Supervising committee: Adão de Siqueira Ferreira – Universidade Federal de Uberlândia e Lucas Carvalho Basílio de Azevedo – Universidade Federal de Uberlândia.

## 1. INTRODUÇÃO

O fósforo (P) é relatado como um recurso natural não-renovável e limitante à produtividade das florestas e dos agroecossistemas tropicais, inclusive no Cerrado. Em geral, os solos altamente intemperizados, à exemplos dos solos tropicais, têm altos valores de P total. Porém, a maior parte do P total encontra-se na fase orgânica e sólida do solo e muito pouco de P inorgânico (Pi) encontra-se na solução do solo e na forma lábil. O Pi na solução do solo é a forma prontamente disponível aos componentes biologicamente ativos no ecossistema terrestre. No entanto, existe um constante equilíbrio entre o P total e Pi na solução dependente de muitos fatores bióticos e abióticos.

A atividade de fosfatase do solo é um indicador importante da qualidade do solo para avaliar os sistemas de uso do solo. No entanto, a atividade de fosfatase no solo é dependente de fatores reguladores, incluindo a disponibilidade de carbono e nutrientes, matéria orgânica do solo, comunidade microbiana do solo e pH das camadas superficiais do solo. A atividade da fosfatase do solo é regulada também pelas condições ambientais, tais como temperatura e umidade do solo. Assim, a modelagem dos parâmetros cinéticos da atividade da fosfatase do solo pode ser uma importante integração dos fatores regulatórios ante a uma simples avaliação da atividade. O modelo de Michaelis-Menten, normalmente, é o mais usado para determinação dos parâmetros cinéticos de enzimas do solo, incluindo a fosfatase. O modelo de Eadie-Hofstee pode ser usado também para estimar os parâmetros cinéticos de enzimas no solo. Os dois modelos estimam dois parâmetros principais:  $V_{max}$  que indica a máxima atividade da enzima e  $K_m$  que indica a constante de afinidade da enzima ao substrato. Porém, os valores dos parâmetros cinéticos podem variar em função do modelo usado. Além disso, modelar os parâmetros cinéticos da fosfatase em diferentes sistemas de uso do solo no Cerrado pode ser de grande importância para o melhor entendimento da dinâmica do P no solo, principalmente aquele ligado a fração orgânica do solo.

No bioma Cerrado, a grande maioria dos solos pertencem a classe de Latossolos, os quais são descritos como pedogeneticamente antigos e altamente intemperizados. Estes solos, em geral, são ácidos, pobres em nutrientes e apresentam elevados teores de óxidos de ferro e alumínio. Porém, os solos do Cerrado têm sido usados em muitas

atividades agrícolas, tais como a produção de soja, milho, trigo, cana e as florestas nativas (pinus e eucaliptos). As áreas nativas do Cerrado encontram-se em pequenos fragmentos ou em áreas de preservação ambiental. As áreas nativas do Cerrado são ecologicamente importantes para preservação e conservação da biodiversidade. No entanto, tanto as áreas nativas como as áreas agrícolas, a limitação de P no solo é um fator que afeta o funcionamento e processos ecológicos do solo e, conseqüentemente, a qualidade dos ecossistemas. Estudos da atividade de fosfatase do solo podem ser um indicador importante na avaliação da qualidade dos ecossistemas. Os solos do Cerrado são ideais para este tipo de investigação devido aos altos fluxos de energia e massa e pelas transformações microbianas (ARRUDA, 2004).

O primeiro objetivo deste trabalho foi estimar os parâmetros cinéticos da atividade de fosfatase no solo em quatro grandes sistemas de uso do solo no Cerrado, na região de Uberlândia-MG. O segundo objetivo foi mostrar que as camadas superficiais (0-5 cm e 5-10 cm) podem ser importantes para diferenciar os agroecossistemas de uso do solo nos estudos envolvendo a atividade de fosfatase no solo.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO GERAL**

### **2.1. Uso de ecossistemas do Cerrado**

O Cerrado é o segundo maior bioma da América do Sul ocupando uma área correspondente à 22% do território brasileiro (CASTRO, 1999; RIBEIRO, 2000). O Cerrado é considerado também um dos principais “hotspots” de biodiversidade mundialmente (MYERS et al., 2000; SILVA; BATES, 2002). O Cerrado brasileiro é referenciado como uma das grandes fronteiras agrícolas do planeta (BORLAUG, 2002). Esta fronteira é decorrente da extensa área e das condições edafoclimáticas apropriadas à produção agrícola. No entanto, a expansão agrícola, nos últimos anos, representa uma grande preocupação, principalmente devido aos impactos da agricultura sobre a degradação do solo e a biodiversidade da fauna e flora, afetando o equilíbrio entre os ecossistemas terrestres e aquáticos (CASTRO, 1999; PIRES, 1999; PRADO et al., 2016).

Muitas fisionomias vegetais caracterizam o bioma Cerrado entre as quais as formações florestais, savânicas e campestres (CASTRO, 1999). Essas formações

predominam desde uma ampla diversidade de espécies vegetais de diferentes portes e densidade a áreas de campos limpos constituídos, preferencialmente, de gramíneas nativas e exóticas. O Cerrado abriga também uma grande diversidade de fauna peculiar incluindo as formações e aquelas temporárias decorrentes das flutuações bioclimáticas (PIRES, 1999). Áreas agrícolas fazem parte do cenário do Cerrado caracterizada, principalmente, como monoculturas, incluindo as culturas da cana, café, soja, milho, algodão e as florestas comerciais (pinus e eucaliptos). Embora os solos do Cerrado sejam relativamente pobres em nutrientes, as áreas agrícolas do Cerrado representam umas das mais produtivas do mundo devido às condições climáticas, facilidade de uso de máquinas agrícolas e uso de insumos, tais como os fertilizantes, corretivos e os fitossanitários usados no manejo das culturas para o controle de doenças e pragas agrícolas (MAZZETO SILVA, 2000; PRADO et al., 2016).

Todas estas alterações antropogênicas decorrentes do uso do solo com práticas agrícolas têm causado grandes impactos no equilíbrio ecológico da fauna e flora do Cerrado, incluindo as poluições dos ecossistemas aquáticos. Sabe-se que, junto ao aumento populacional há uma exigência de aumento na produção agrícola, no entanto, deve haver uma preocupação com o meio ambiente e desgaste do solo e seus nutrientes. Desta forma, estudos de ecologia do solo e os processos envolvendo as transformações dos nutrientes são, atualmente prioridades, pois o solo constitui um sistema dinâmico e em constante transformação (PRADO et al., 2016; VINHAL-FREITAS et al., 2017).

No Cerrado predominam solos de moderada a baixa fertilidade natural, e com o P fortemente adsorvido e, portanto, pouco disponível para a solução do solo (NOVAIS; SMYTH, 1999). Neste contexto, para sua exploração, o solo do Cerrado necessita de uso de corretivos (calcário) e fertilizantes químicos para recompor a fertilidade e manter a produção (MANZATTO et al., 2002). A utilização do solo deste bioma precisa ser estudada, pois a antropização, ou uso da Terra, é entendida como a forma de ocupação do espaço pelo homem e cuja importância se dá na medida em que os efeitos do uso desordenado, causam deterioração no ambiente (ROSA, 1990) e também pela necessidade de obter uma metodologia mais rápida para avaliar a qualidade do solo, considerando as relações complexas entre gestão de seu uso e políticas de preservação do solo (VELASQUEZ et al., 2007; RUTGERS et al., 2012; YEAR BOOK, 2012).



## **2.2. Biologia do solo**

O solo é um sistema heterogêneo e muito dinâmico formado em função do material de origem, tempo, clima, relevo e organismos (BRADY; WEIL, 2002). O resultado desses fatores integrados leva a formação de diferentes tipos de solo com as mais variadas propriedades físico-químicas e biológicas, as quais formam o habitat solo nos diferentes ecossistemas terrestres (PAUL, 2007; SYLVIA et al., 1999). Desse modo, a constituição e a heterogeneidade dos solos apresentam quantidades variadas de matéria orgânica, minerais, gases, água e organismos.

Dentre os organismos, os micro-organismos são componentes fundamentais para a manutenção e sobrevivência das comunidades vegetais e animais nos ecossistemas terrestres e exercem um papel chave no funcionamento do solo, incluindo a ciclagem de nutrientes e as trocas gasosas (ANDREWS et al., 2004; BOYD; BANZHAF, 2007). A atividade biológica do solo é a característica que distingue o solo de outras formações geológicas. Esta atividade e seus componentes podem ser mensuráveis e definem o potencial biológico de um solo (HUNGRIA et al., 1997). Os pesquisadores relatam a necessidade de se ter uma abordagem do serviço de ecossistemas do solo (PRADO et al., 2016) e tratar o solo como um sistema complexo relacionado à segurança humana, à integridade ambiental e aos aspectos econômicos (BLUM, 2005; HAYGARTH; RITZ, 2009; ROBINSON et al., 2014).

O equilíbrio dos processos ecológicos do solo está associado a uma boa qualidade biológica, tendo impactos positivos na disponibilidade de nutrientes às plantas (qualidade da fertilidade) e diminuição das perdas de nutrientes, a exemplo da lixiviação de sais (GORDON et al., 2008). Medidas de manejo de solo que levam à melhoria da qualidade biológica, em especiais aquelas que resultam em ganho de matéria orgânica, podem aumentar os níveis de tolerância dos organismos do solo aos fatores de estresses (DORAN; PARKIN, 1996; GORDON et al., 2008; HOFMAN et al., 2003; POWLSON et al., 1987).

Alterações na qualidade biológica do solo, mensurada em processos metabólicos da comunidade microbiana, deve-se à capacidade de respostas dos micro-organismos às modificações, uma vez que estes se mostram mais sensíveis ou por apresentarem alterações expressivas aos estímulos ambientais, num curto período de tempo. Visto que a calagem altera algumas características do solo determinantes para a atividade enzimática, como o pH, a disponibilidade de cátions e a composição da microbiota

(HALSTEAD, 1964; JENSEN, 1931; PAULSON; KURTZ, 1970), supõe-se que a atividade de fosfatases poderá ser alterada por essa prática agrícola. Os indicadores de qualidade do solo são atributos físicos, químicos e biológicos que medem a qualidade e saúde dos solos sob diferentes sistemas de uso da terra. No entanto, os indicadores microbianos e bioquímicos dentro dos atributos biológicos têm sido mais sensíveis na avaliação da qualidade do solo devido sua forte relação com os processos ecológicos do solo (DORAN; PARKIN, 1994; GIL-SOTRES et al., 2005).

### **2.3. Indicadores de qualidade do solo**

Quando uma área é antropizada, como por exemplo a conversão de uma floresta nativa para pastagem ou lavoura para produção de grãos, os processos ecológicos são significativamente afetados, alterando principalmente a ciclagem de nutrientes no solo (PRADO et al., 2016). O conhecimento dos processos microbianos pode ser adquirido por meio dos estudos de metabolismo, em particular dos grupos funcionais microbianos ou de modo geral, pela avaliação de medidas do estado funcional da comunidade microbiana do solo.

O metabolismo dos micro-organismos, em geral, pode ser mensurado por duas respostas: catabólica e anabólica. A primeira resposta está associada aos processos bioquímicos intracelulares que liberam energia, sendo estes associados à degradação de moléculas, tais como glicose, aminoácidos e ácidos graxos. No solo, as principais formas de medida do catabolismo, geralmente usadas, são a liberação de carbono, na forma de CO<sub>2</sub>, e a detecção de enzimas intracelulares, a destaque a atividade da desidrogenase (KISS et al., 1975; LADD, 1978; PAUL, 2007; STOTZKY, 1965). A segunda resposta metabólica está associada à síntese de macromoléculas envolvidas na estruturação e funcionalidade dos processos biológicos, tendo como resultado o consumo de energia produzida no catabolismo.

Entre os atributos utilizados de medida do estado anabólico do solo, pode se destacar a quantificação da massa celular, conhecida como biomassa microbiana medida indiretamente pelo teor de carbono, nitrogênio, enxofre ou fósforo, e a detecção da atividade de enzimas hidrolítica, medida sobre um substrato específico (BADIANE et al., 2000; DICK; TABATABAI, 1993; FERREIRA et al., 2013; VANCE et al., 1987). A utilização de atributos metabólico possibilita mostrar características próprias de unidades ambientais e a dinâmica de funcionamento do sistema solo em resposta às

diferenças dos ecossistemas. Isto se deve às funções ecológicas dos micro-organismos nos processos biológicos no solo.

Embora a matéria orgânica seja de grande importância na atividade da comunidade microbiana, outros fatores, como temperatura, umidade e pH, atuam na regulação do metabolismo do solo, interferindo na distribuição e abundância dos grupos microbianos no solo (ATLAS; BARTHA, 1997; PAUL, 2007; SYLVIA et al., 1999).

Vários relatos mostram que a temperatura é um fator primário de regulação com interferência direta na distribuição do micro-organismo, mudando o potencial metabólico da microbiota do solo (HOFMAN et al., 2003; PAUL, 2007). Apesar de a temperatura do solo ser dependente das condições climáticas de cada região, práticas de manejo, como resíduos de colheitas sobre a superfície do solo podem alterar a resposta da comunidade microbiana (HOFMAN et al., 2003; SHAVER et al., 2000; van MEETEREN et al., 2008). Solos tropicais, por exemplo, têm baixo conteúdo de matéria orgânica, não pela falta de produção de massa vegetal, mas sim pela atividade dos micro-organismos em degradar e mineralizar a matéria orgânica do solo (HOFMAN et al., 2003; PAUL, 2007) em decorrência das maiores temperaturas, quando comparado com solos localizados em regiões de clima temperado ou mais frios.

Os sistemas de uso da terra têm um impacto importante na perda do carbono orgânico do solo (COS), e há evidências de que a disponibilidade de carbono e fósforo regula fortemente a respiração microbiana do solo, em condições tropicais (CLEVELAND et al., 2002). Os exemplos desta prática têm demonstrado que ocorrem aumentos de biomassa microbiana na superfície do solo, podendo-se associar este ganho, em parte, a temperatura do solo, além de aumentos de matéria orgânica no solo (HOFMAN et al., 2003; KNAPP et al., 2002; MELILLO et al., 2002; van MEETEREN et al., 2008; WAN et al., 2002).

Estudos comparativos de sistemas agrícolas com outras unidades ambientais naturais devem ser direcionados em busca de informações dos processos biológicos que ocorrem no solo, principalmente quando aplicado um estímulo ambiental à comunidade microbiana, tais como adubação mineral, corretivos e temperatura (FISCHER et al., 2007; PAUL, 2007; RAMPELOTTO et al., 2013; SYLVIA et al., 1999).

Os estudos sobre as ações antrópicas se fazem necessários para entender os sistemas de exploração utilizadas no solo do Cerrado. Sistemas de exploração podem afetar negativamente a atividade da fosfatase quando afetam a disponibilidade de água,

a quantidade de matéria orgânica do solo, a composição das comunidades microbianas (WALDROP et al., 2000), a profundidade do solo, o estágio de sucessão ecológica (CALDWELL, 2005; TSCHERKO et al., 2003), distúrbios do solo (incêndio) e a consequente redução da biomassa microbiana (EIVAZI; BAYAN, 1996; BOERNER et al., 2000).

As ações antrópicas provocam mudanças ambientais e alterações expressivas no teor de matéria orgânica, alterando de forma significativa a fração viva deste solo, ou seja, a microbiota (PRADO et al., 2016). Neste sentido um importante indicador da qualidade do solo, podem ser medidos pelas propriedades bioquímicas, refletindo na biomassa microbiana (TRASAR-CEPEDA et al., 2008). Visto a participação dos micro-organismos em todos esses processos, é válida a utilização da fração microbiana como indicadores sensíveis na avaliação dos ecossistemas (POWLSON; JENKINSON, 1981; XAVIER et al., 2006).

Os micro-organismos do solo desempenham papel fundamental no ciclo biogeoquímico dos nutrientes e nas suas disponibilidades para as plantas. A transformação e ciclagem de nutrientes, juntamente com o fluxo de energia dentro dos ecossistemas são de responsabilidade dos micro-organismos presentes neste solo (BARTON et al., 2013; GORDON et al., 2008; GROGAN; JONASSON, 2005; HOFMAN et al., 2003; LISKI et al., 2003;). Os micro-organismos são a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo, e são importantes nos processos de decomposição de resíduos de plantas e animais, ciclagem biogeoquímica dos elementos, fixação biológica do nitrogênio, decomposição de material mineral, solubilização de nutrientes, formação da matéria orgânica e estrutura do solo (POWLSON; JENKINSON, 1981). Os fungos e as bactérias são os principais grupos de micro-organismos no solo que sintetizam enzimas responsáveis pela decomposição e mineralização da MOS (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Assim, as atividades enzimáticas tornam-se essenciais para a avaliação dos processos metabólicos e funcionamento dos ecossistemas.

Trabalhos, como de Liski et al. (2003) têm demonstrado a importância dos micro-organismos nos ecossistemas terrestres, sobretudo na decomposição da matéria orgânica e disponibilidade de nutrientes às plantas. Assim, os micro-organismos são de grande importância na transformação da matéria orgânica, na reserva de nutrientes no solo (biomassa microbiana) e na disponibilização de nutrientes às plantas, melhorando a

qualidade da fertilidade dos solos para desenvolvimento e crescimento de plantas de uma forma equilibrada, quando bem manejado (HOFMAN et al., 2003; TATE, 2000; TRASAR-CEPEDA et al., 2008b).

A quantificação da biomassa microbiana é um indicador da qualidade do solo, mas não é capaz de fornecer indicações sobre os níveis de atividade das populações microbianas (ANDERSON; DOMSCH, 2010). Em vista disso, é necessário utilizar parâmetros como o quociente microbiano (qMIC), o quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) e a atividade enzimática (ANDERSON; DOMSCH, 1993, 2010; BALDOCCHI et al., 2006; POWLSON et al., 1987) para medir a atividade microbiana a fim de avaliar o estado metabólico atual e potencial das comunidades de micro-organismos do solo.

Os processos essenciais para o funcionamento dos solos são catalizados por enzimas extracelulares que promovem a ciclagem do carbono ( $\beta$ -glicosidase), nitrogênio (urease), fósforo (fosfatase), enxofre (arilsulfatase) e mediados pelos micro-organismos (SINSABAUGH et al., 1993). Estudos mostram que indicadores biológicos são mais sensíveis que indicadores químicos e físicos por revelar com antecedência, alterações que ocorrem no solo em função do seu uso e manejo (DORAN, 1980; DICK, 1994; MATSUOKA et al., 2003; TRASAR-CÉPEDA et al., 1998).

#### **2.4. O fósforo no solo**

O P é um elemento essencial para todos os organismos (WESTHEIMER, 1987), sendo um nutriente metabolicamente envolvido em muitos processos vitais nos seres vivos. Por exemplo, o elemento está envolvido na transferência e armazenamento de energia, na fotossíntese, nas sínteses e constituição de ácidos nucleicos e fosfolipídios (ARAÚJO; MACHADO, 2006; MARGALEF et al., 2017, PAUL, 2007). Devido a sua importância metabólica nos organismos, o P é um macronutriente, juntamente com nitrogênio (N), potássio (K), enxofre (S) e magnésio (Mg), limitantes de muitos processos ecológicos nos ecossistemas terrestres e aquáticos. A limitação do P no solo ocorre devido à baixa disponibilidade do elemento na solução do solo.

O P é encontrado no solo na forma inorgânica (Pi) e na forma orgânica (P<sub>org</sub>). Na forma inorgânica sólida que compreendem aquelas adsorvidas aos grupos funcionais de superfícies dos coloides minerais, dos óxidos de ferro e alumínio e de cálcio, as quais constituem a maior fração do P total do solo e caracterizam-se pela baixa dissolução e, conseqüentemente, baixa biodisponibilidade aos organismos do solo (SMITH et al.,

2011). O  $P_i$ , na forma de ortofosfato ( $H_2PO_4$  e  $HPO_4$ ), pode estar ainda na solução do solo, mas neste caso não mais que 1% do P total do solo (PAUL, 2007). O  $P_i$  da solução constitui a forma prontamente disponível as plantas e demais organismos do solo.

As formas orgânicas são representadas pelos íons fosfatos ligados aos compostos orgânicos tais como os fosfolipídios, adenosina trifosfato (ATP), nicotinamida fosfatada (NADP), ácidos nucleicos e inositol hexafosfato (PAUL, 2007; SYLVIA et al., 1999). Destas formas, inositol hexafosfato pode representar a maior parte do  $P_{org}$ , contendo de 10 a 50% do  $P_{org}$  total do solo. No entanto, o  $P_{org}$ , diferentemente do  $P_i$  da fase sólida, é bastante suscetível às transformações microbianas do solo, sendo incluído no “pool” de P lábil do solo. O fósforo da biomassa microbiana (PBM) do solo, incluído também na fração orgânica do solo, é uma importante fonte de P no solo, cujos valores podem variar de 5 a 75 mg P  $kg^{-1}$  de solo (PAUL, 2007; SYLVIA et al., 1999). O PBM pode representar de 2 a 5% do  $P_{org}$  em solos agrícolas e além de 20% em solos sob pastagens e florestas (BROOKES; POWLSON; JENKINSON, 1984; SYLVIA et al., 1999;). A imobilização temporária de P na biomassa microbiana pode diminuir ou retardar a adsorção de fosfato nos grupos funcionais de superfícies dos minerais (CONTE et al., 2002). O PBM pode ser facilmente mineralizado, após a morte e lise das células microbianas do solo, e sincronizado com a demanda de P para o crescimento das plantas, contribuindo com a reserva de P disponível no solo (CONTE et al., 2002). O manejo do solo e o tipo de vegetação afetam as formas de P do solo, principalmente as orgânicas, por estarem diretamente relacionadas com a atividade biológica do solo (TATE, 1984).

A disponibilidade de P a partir da aplicação de fertilizantes fosfatados solúveis depende da reação que controla o suprimento do nutriente à solução do solo (adsorção química ou precipitação), do pH ao redor do grânulo do fertilizante e do tipo de precipitado de P que predomina (ERNANI et al., 2001). Diante desses fatores que controlam a disponibilidade do nutriente para as plantas e da realidade dos solos brasileiros, se faz necessário o uso de tecnologias que aumentem a eficiência de uso do P para o manejo eficiente da adubação fosfatada. O gerenciamento eficiente de P nos agroecossistemas é obrigatório porque P geralmente limita a produtividade primária. Os depósitos de P são finitos e as perdas de P em ambientes naturais causam eutrofização, com efeitos adversos sobre os ecossistemas terrestres (CEULEMANS et al., 2011) e especialmente aquáticos (CARPENTER, 2005).

Nos solos do Brasil, a baixa disponibilidade de P é um fator limitante ao desenvolvimento e crescimento das plantas e também da atividade microbiana do solo, pois possui solos altamente intemperizados, sendo um deles, o solo do Cerrado (BROWN et al., 2009; ELSER et al., 2007; GNANKAMBARY et al., 2008; ILSTEDT et al., 2007; RASHID et al., 2005). Especificamente no Cerrado brasileiro tem-se uma limitação natural que é a sua baixa fertilidade natural, e em condições naturais, o P é o nutriente com maior deficiência, sendo, portanto, muito dependente de adubação fosfatada (LOPES, 1994; SOUSA et al., 2004).

De acordo com Prado et al. (2016) o não revolvimento do solo reduz a adsorção de P nos coloides, aumentando assim sua disponibilidade para as plantas e também proporciona uma decomposição dos materiais orgânicos mais lenta e gradual que irá disponibilizar formas orgânicas de P menos suscetíveis as reações de adsorção. Por se ligar aos óxidos (oxi-hidroxidos e hidróxidos de  $Fe^{3+}$  e  $Al^{3+}$ ) devido as suas cargas negativas, o P na forma de íon-fosfato ( $PO_4^{2-}$ ) é um nutriente de pouca mobilidade no solo. Agora nas plantas, o P na sua forma inorgânica, tem muita mobilidade, acumula e distribui energia na forma de ATP (RAIJ et al., 1987). Em vários estudos baseados na profundidade, a concentração de P está principalmente nas camadas superficiais do solo, o que confirma sua baixa mobilidade e a matéria orgânica do solo como fonte (SÁ, 1993).

Pesquisas recentes indicam que o  $P_{org}$  em solos tropicais ocorre principalmente como monoésteres de fosfato e diésteres de fosfato (TURNER; ENGELBRECHT, 2011), que podem ser mineralizados por enzimas de fosfatase extracelular (ACOSTA-MARTINEZ; TABATABAI, 2011). A reciclagem do P que o torna disponível para as plantas na solução do solo, ocorre a partir da matéria orgânica do solo (ALBRECHT et al., 2010, BROOKS et al., 2013; TABATABAI; BREMNER, 1969,). O  $P_i$  é agregado na solução do solo, através de um processo enzimático que mineraliza o  $P_{org}$ , sendo este processo realizado por um grupo de fosfatase ao catalisar reações hidrolítica de grupos fosfato (mono ou diésteres) (CRIQUET; BRAUD 2008, TABATABAI, 1994).

As enzimas do solo são indicadores muito sensíveis às mudanças no solo, como adubação, vegetação, rotação de culturas, entre outros. Por isso, podem ser consideradas como indicadores importantes para avaliar o impacto de ações antrópicas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Por exemplo, a atividade da fosfatase ácida é afetada por alterações microclimáticas e das propriedades químicas e físicas do solo (SINSABAUGH et al.,

1993). O equilíbrio nos processos biológicos do solo está associado a uma melhor qualidade biológica, podendo ter impactos positivos na disponibilidade de nutrientes às plantas (qualidade da fertilidade) e diminuição das perdas de nutrientes, a exemplo da lixiviação de sais (GORDON et al., 2008).

Os relatos mostram, também, que medidas de manejo de solo que levam à melhoria da qualidade biológica, em especiais aquelas que resultam em ganho de matéria orgânica, podem aumentar os níveis de tolerância dos organismos do solo aos fatores de estresses (DORAN; PARKIN, 1996; GORDON et al., 2008; HOFMAN et al., 2003; POWLSON et al., 1987). As alterações da qualidade biológica do solo, mensurada em processos metabólicos da comunidade microbiana, deve-se à capacidade de respostas dos micro-organismos às modificações, devido estes serem os mais sensíveis ou mostrarem alterações expressivas aos estímulos ambientais, num curto período de tempo.

Como os processos metabólicos são mediados por enzimas, a quantificação da atividade enzimática do solo pode, juntamente com a biomassa microbiana, contribuir para uma melhor abrangência em relação aos efeitos das práticas de manejo e uso no solo (MATSUOKA et al., 2003). Um dos principais indicadores bioquímicos do solo é a atividade de enzimas, tais como a  $\beta$ -glicosidase, desidrogenases e fosfatases, visando à avaliação do estado funcional dos solos. As fosfatases, tanto extracelular como intracelular, estão relacionadas à ciclagem de P, sendo a detecção associada à disponibilização de P lábil no solo (PAUL, 2007).

Os estudos de enzima do solo, no bioma Cerrado, têm sido realizados, mas ainda são incipientes para assegurar um volume de resultados na avaliação geral do funcionamento do solo (FERREIRA et al., 2016; VINHAL-FREITAS et al., 2013), quando comparados a resultados mais consolidados, como matéria orgânica e propriedades químicas e físicas do solo. O estudo de enzima no solo é um forte indicador para avaliar o potencial metabólico da microbiota e medir os impactos do uso e manejos dos solos agricultáveis e, também, aqueles sob condições naturais (VINHAL-FREITAS et al., 2012, 2013).

## **2.5. Fosfatase no solo**

Fosfatases do solo são grupos de enzimas hidrolíticas extracelulares que catalisam reações de liberação de fosfato de diferentes compostos orgânicos para a



solução do solo (PAUL, 2007; SYLVIA et al., 1999; TRASAR-CEPEDA et al., 2008). As fosfatases podem ser classificadas em função dos compostos orgânicos fosforados, a saber:

- Fosfomonoesterases hidrolisam o fosfato nas formas de fósforo monoéster, tais como ácidos nucleicos (AMP), fosfolípidios e açúcares fosfatados.
- Fosfodiesterases hidrolisam o fosfato nas formas de fósforo diéster, a exemplo de ácidos nucleicos (ADP).
- Fitases hidrolisam fosfato de inositol fosfatado.

No entanto, a atividade de fosfatases no solo é mensurada geralmente e indiretamente por meio de um substrato sintético, p-nitrophenolphosphate (p-NPP) (TABATABAI; BRENMER, 1969). As enzimas extraídas do solo realizam a hidrólise do substrato liberando p-nitrofenol (p-NP) e fosfato, sendo o primeiro quantificado por colorimetria devido a sua coloração amarela em pH alcalino. Do total de fosfatases no solo, 70 à 80%, é produzido pela comunidade microbiana (PAUL, 2007). Entre os micro-organismos do solo, destacam-se *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*, *Arthrobacter spp.*, *Streptomyces spp.* e os fungos, tais como *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus spp.* e *Cunninghamella spp.* Assim, é possível acreditar que no solo existem muitas isoformas de fosfatases com diferentes afinidades pelo substrato em virtude do grande espectro de micro-organismos produtores de fosfatases. Além disso, maior produção de fosfatase no solo proveniente dos micro-organismos ocorre devido sua expressiva biomassa, alta atividade metabólica e constantes mortes e lises celulares (várias gerações) realizando a produção e liberação de expressivas quantidades de enzimas no meio (NAHAS, 2002).

As fosfatases podem ser ainda separadas em dois grupos: fosfatases alcalinas e ácidas de acordo com a faixa de pH de atividade ótima. As fosfatases alcalinas são produzidas preferencialmente pelos micro-organismos do solo, enquanto que ácidas podem ser produzidas tanto pelas plantas como pelos micro-organismos. A maioria dos estudos de fosfatases em solos é feito com as fosfatases ácidas (pH 6.5), incluído os solos do Cerrado (FERREIRA et al., 2016; VINHAL-FREITAS et al., 2013, 2017). No entanto, também existem muitos relatos com as fosfatases alcalinas no Cerrado (VINHAL-FREITAS et al., 2013).

Muitos são os fatores bioquímicos nos ensaios que interferem e regulam a atividade de fosfatase no solo, tais como o tampão, pH, temperatura, sais e metais (FERREIRA et al., 2016; HUANG; SHINDO 2000; TABATABAI, 1994). Em solos de Cerrado, Ferreira et al. (2016) mostraram que o tipo de tampão nos ensaios de atividade de fosfatase no solo tem uma grande influência em estudos comparativos, envolvendo os sistemas de uso do solo, e concluíram que o tampão acetato de cálcio pode ser mais representativo àqueles, normalmente, usado na literatura, incluindo o tampão universal modificado proposto por Tabatabai e Bremner (1969). Embora exista uma tendência na literatura que os fatores bioquímicos estejam previamente definidos, os enzimologistas do solo ainda preconizam que os fatores bioquímicos podem afetar a resposta das enzimas nos ensaios devido à natureza dos solos e à diversidade da comunidade microbiana do solo.

Por outro lado, os fatores abiótico e biótico do solo são os mais estudados na resposta da atividade da fosfatase do solo. A temperatura e umidade parecem definir a atividade de fosfatase do solo numa escala global nos diferentes ecossistemas terrestres (MARGALEF et al., 2017). Os efeitos da temperatura e umidade ocorrem, particularmente, por interferir na produtividade líquida da biomassa vegetal dos ecossistemas, a qual é dependente do grau de intemperização dos solos, do bioma e do tipo de vegetação. Em escala regional, fatores como matéria orgânica total e nutrientes disponíveis têm tido altas correlações com a atividade de fosfatase no solo (HUI et al., 2013; MARGALEF et al., 2017; RATLIFF; FISK, 2016; STONE; PLANTE, 2014). Estudos acoplado o carbono lábil e nitrogênio também têm ganhado importância sobre a atividade de fosfatase do solo (MARINARI et al., 2008; RATLIFF; FISK, 2016). As interações mutualistas entre plantas e micro-organismos, tais como as bactérias fixadoras de nitrogênio e as micorrizas, podem interferir positivamente na atividade de fosfatase no solo (MARGALEF et al., 2017; NASTO et al., 2017). Os efeitos da rizosfera das plantas podem ter interferências específicas e diferenciadas na quantidade e no tipo de fosfatase no solo (FIALHO, 2013)

Muitos relatos com fosfatase do solo têm sido realizados por acessarem a sua atividade potencial ao invés de avaliar os parâmetros cinéticos da enzima. A atividade potencial é usualmente mensurada por uma simples saturação do sítio ativo contendo uma única concentração do substrato, servindo simplesmente como um indicador da qualidade do solo para diferenciar os diferentes sistemas de uso do solo com outros

indicadores (MARGALEF et al., 2017; RATLIFF; FISK, 2016; VINHAL-FREITAS et al., 2013). Os parâmetros cinéticos oferecem uma melhor descrição da resposta da enzima porque o sítio ativo das fosfatases é saturado com diferentes concentrações do substrato (FERREIRA et al., 2016; HUI et al., 2013; MARINARI et al., 2008; STONE; PLANTE, 2014). Os parâmetros cinéticos de uma enzima podem estar mais integrados com os processos ecológicos do solo e oferecer melhores indicativos nos estudos biogeoquímico dos nutrientes numa escala global (ALLISON et al., 2010; STONE; PLANTE, 2014). Os parâmetros cinéticos da fosfatase do solo podem ser determinados usando alguns modelos, mas as equações de Michaelis-Menten (01) e Eadie-Hofstee (02) são as mais estudadas:

$$V = (V_{\max} \times [S]) / (K_m + [S]) \quad \text{Equação (01)}$$

$$V = (-K_m) \times V / [S] + V_{\max} \quad \text{Equação (02)}$$

Onde  $V$  é a velocidade de reação enzimática de conversão do substrato,  $S$  é a concentração do substrato,  $V_{\max}$  é a máxima atividade enzimática alcançada nas condições do ensaio de conversão do substrato e  $K_m$  é a constante de reação determinada nos modelos. As duas equações estimam os valores de  $K_m$ , os quais indicam a afinidade da enzima pelo substrato, significando, assim, que quanto menor o valor maior será afinidade da enzima com substrato nos ensaios. Na modelagem, independente do modelo usado, os parâmetros cinéticos dependem do “pool” de enzimas, das condições do ensaio e de isoformas da enzima (FERREIRA et al., 2016; WANG et al., 2012). Porém, os valores podem variar em função do modelo usado para estimar os parâmetros cinéticos como relatados na literatura (FERREIRA et al., 2016; WANG et al., 2012). O modelo de Eadie-Hofstee é uma linear e o valor estimado de  $K_m$  é resultante da inclinação ( $\hat{\theta}$ ) da equação de regressão e o valor de  $V_{\max}$  é estimado pelo intercepto entre as coordenadas “x” e “y”. A equação de Michaelis-Menten, embora esta seja a mais usada, o valor de  $K_m$  representa a metade do  $V_{\max}$  ( $1/2 V_{\max}$ ) na equação hiperbólica de regressão, mostrando uma certa dependência na estimativa dos parâmetros cinéticos.

Embora se conheça muito pouco a despeito dos parâmetros cinéticos da atividade de fosfatase em solos tropicais, quantificar estes parâmetros pode ser de fundamental importância devido a relevância do fósforo nos ecossistemas. Além disso, a mensuração dos parâmetros cinéticos da fosfatase no solo, será importante para conhecer os mecanismos, o papel da enzima, sua resposta a concentração de metabólitos e os

mecanismos de controle (HENRY, 2012; MARINARI et al., 2008; WANG et al., 2012). Tais informações são relevantes para diferenciar os sistemas de uso do solo e camadas superficiais do solo. Assim, a hipótese deste trabalho é que os parâmetros cinéticos da fosfatase do solo são indicadores relevantes na diferenciação dos agroecossistemas e das camadas superficiais do solo no bioma Cerrado e que a modelagem depende da equação de regressão usada.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Área da Pesquisa

A pesquisa foi realizada na região do Triângulo Mineiro no município de Uberlândia em áreas de Cerrado nativo e agrícolas sob diferentes usos da terra (Tabela 1). Todas as análises do projeto foram realizadas no Laboratório do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia. O clima da região é do tipo CWa de acordo com a classificação de Köppen (ALVARES et al., 2013), tendo uma precipitação anual média de 1.500 mm e sua distribuição concentrado entre os meses de novembro e março. A textura do solo é argilosa e o solo classificado como Latossolo Amarelo, segundo o Sistema Brasileiro de Classificação do solo (EMBRAPA, 2013).

Tabela 1: Áreas de estudo com as coordenadas geográficas, altitude e textura do solo.

Ecossistema	Coordenadas geográficas	Altitude m	----- g kg <sup>-1</sup> -----		
			Argila	Areia	Silte
Cerradão	19°20'46" S 48°00'59" W	970	705	173	122
Pinus	19°04'58" S 48°10'49" W	970	792	111	97
Soja	19°20'30" S 48°00'48" W	976	705	173	122
Cana	19°20'49" S 48°06'15" W	925	732	117	151

Os Conteúdos de argila, silte e areia determinados na camada de 0-10 cm.

No estudo foi coletado solo em vegetação de Cerradão, cujas informações podem ser encontradas em Vinhal-Freitas et al. (2013). A área de pinus (floresta densa de *Pinus caribaea* var *hondurensis*) com mais de 30 anos de floresta e contendo uma camada espessa de serapilheira. A área com cultivo de soja por mais de 17 anos localizada ao lado da área nativa, sendo a fertilização com N, P, K feita conforme a recomendação da cultura. A quarta área foi um sistema com cana (*Saccharum officinarum*) à mais de 18 anos, sendo as adubações realizadas conforme recomendação da cultura.

### **3.2. Coleta do solo**

As amostras de solos foram coletadas nas unidades de usos em abril de 2015 sendo feita com objetivo de obtenção de uma amostra representativa. As coletas foram realizadas por meio do deslocamento em zig-zag. As amostragens de solo foram realizadas em áreas de 20 x 30 cm em duas profundidades (0-5 cm e 5-10 cm). Em cada área, quatro amostras, distanciadas de 100 m uma da outra, foram constituídas de 4 sub-amostras, sendo as sub-amostras distanciadas de 5 à 10 m. As sub-amostras foram misturadas em um balde para constituir as 4 repetições em cada unidade. As amostras foram então levadas para o laboratório para serem tamizadas (3 mm). Uma porção das amostras foi seca ao ar para as análises físicas e químicas. O restante da porção de solo úmido foi guardado em geladeira (4°C) para as análises dos indicadores microbianos e os ensaios de fosfatase.

### **3.2. Caracterização Físico-Químico do solo**

Os teores de argila, areia e silte foram determinados usando solo seco ao ar de acordo com o método da pipeta (GEE; BAUDER, 1986). A caracterização química foi realizada em solo seco ao ar, triturado em cadinho de porcelana e passado em peneira (< 2 mm), sendo determinadas as seguintes análises: pH em água (1:2,5); carbono orgânico total (COT) como descrito por Yeomans e Bremner (1988); nitrogênio total (NT) pelo método de Kjeldahl (BLACK, 1965); P, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> disponíveis de acordo com o manual da EMBRAPA (1981).

### **3.3. Indicadores Microbianos do solo**

A caracterização de atributos microbianos foi realizada pela análise da respiração microbiana do solo (RMS), carbono da biomassa microbiana (CBM) e atividade de desidrogenase do solo (DHA). A RMS foi realizada pela quantificação do CO<sub>2</sub> liberado em 100 gramas de solo fresco em frascos 500 mL hermeticamente fechados. Os frascos contendo o solo foram incubados a 25°C por 21 dias, sendo as quantificações de CO<sub>2</sub> feitas aos 3, 5, 14 e 21 dias de incubação. O CBM foi feito segundo o método irradiação-extração de Ferreira et al. (1999). A atividade da DHA do solo foi estimada pelo método descrito por Von Mersi e Schinne (1991), usando 1 grama (1g) de solo fresco em tampão-tris (0,5M, pH 7,5) contendo um substrato sintético (Iodonitrotetrasolium chloride, Sigma). Este ensaio foi realizado na temperatura de 40°C por 1 hora de incubação, sendo os valores estimado pela curva padrão do produto com *Nitrotetrazolium Formazan* (Sigma) da reação do substrato.

### **3.4. Atividade da Fosfatase**

Os ensaios da atividade de fosfatase foram determinados conforme procedimento descrito por Tabatabai e Bremner (1969) adaptado por Ferreira et al. (2016) aos solos de Cerrado. Foi transferido 1 grama (1g) de solo fresco para tubo Falcon (50 mL) e adicionado 4 mL de tampão acetato (0.5M, pH 6.5). Em seguida, foi adicionado 1 mL de substrato p-nitrofenol fosfato (p-NPP). As concentrações de substratos usados foram de 0, 15, 30, 50, 80 mg p-NPP mL<sup>-1</sup> do tampão. A mistura foi agitada no vortex e incubada em banho maria a 37°C por 1 hora. Após, este tempo foi adicionado 1 mL de cloreto de cálcio (1M) agitando em seguida no vortex. A reação foi parada com 4 mL de hidróxido de sódio (NaOH, 1M) seguido de agitação no vortex. Os valores de p-nitrofenol (p-NP) das amostras foram estimados mediante uma curva padrão de p-NP (0; 0,05; 1; 2; 4; 8 e 16 ug pNP mL<sup>-1</sup>) e leitura em espectrofotômetro (Biomate 3, Thermo Scientific, USA) a 405 nm. Os valores de atividade das fosfatase foram todos expressos em ug p-PNP g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>.

### **3.5. Cinética e modelo de isoformas de fosfatase do solo**

Os parâmetros cinéticos de fosfatase do solo foram determinados pela equação de Michaelis-Menten (01) e a modelagem das isoformas pela equação de Eadie-Hofstee (02).

$$V = (V_{\max} [S]) / (K_m + [S]) \quad (01)$$

$$V = (- K_m) \times V / [S] + V_{\max} \quad (02)$$

Onde V é a taxa de liberação de p-NP,  $V_{\max}$  é a máxima atividade da fosfatase, [S] é concentração do substrato (p-NPP) e  $K_m$  é uma constante da equação de Michaelis-Menten.

### **3.6. Análise Estatística**

Os atributos químicos e microbianos do solo foram testados quanto à normalidade e homogeneidade usando o software SigmaPlot.

As causas de variação usadas para executar a análise de variância (ANOVA) foram: sistemas (4), profundidades (2) e profundidades x sistemas.

A ANOVA foi realizada utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2010).

As médias dos atributos foram testadas entre os ecossistemas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A atividade da fosfatase foi modelada usando as equações Michaelis-Menten e Eadie-Hofstee e os parâmetros cinéticos foram calculados pelo programa Sigmaplot a 1% de significância.

Os valores de  $K_m$  de cada modelo foram correlacionados com os indicadores químicos e microbianos do solo usando a correlação de Pearson e seus coeficientes (r) testados por t-Student a níveis significativos de 1% e 5%.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Análise das características químicas e microbianas**

As características químicas do solo são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Valores das propriedades físicas e químicas do solo analisados em duas profundidades e em diferentes agroecossistemas no Cerrado.

Propriedade	Profundidade	Cerradão	Pinus	Soja	Cana
PH	0 a 5	3,75 ± 0,05	3,67 ± 0,08	5,87 ± 0,08	5,90 ± 0,12
	5 a 10	3,85 ± 0,05	3,90 ± 0,00	5,37 ± 0,08	5,40 ± 0,14
COT mg C Kg <sup>-1</sup>	0 a 5	30,4 ± 2,6	19,9 ± 3,2	18,7 ± 1,6	18,7 ± 0,5
	5 a 10	23,9 ± 2,5	12,5 ± 0,3	16,7 ± 0,9	18,3 ± 2,2
NT mg Kg <sup>-1</sup>	0 a 5	3,43 ± 0,15	1,25 ± 0,14	2,01 ± 0,16	1,64 ± 0,12
	5 a 10	2,34 ± 0,11	0,89 ± 0,14	1,50 ± 0,06	1,17 ± 0,09
P mg dm <sup>-3</sup>	0 a 5	1,21 ± 0,11	1,07 ± 0,02	3,47 ± 0,11	1,47 ± 0,09
	5 a 10	1,12 ± 0,01	1,03 ± 0,01	2,43 ± 0,81	1,64 ± 0,36
K <sup>+</sup> mg dm <sup>-3</sup>	0 a 5	44,2 ± 7,1	25,7 ± 7,4	116 ± 47	116 ± 23
	5 a 10	32,7 ± 2,0	11,5 ± 0,8	94 ± 32	65 ± 16
Ca <sup>2+</sup> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0 a 5	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	2,8 ± 0,1	2,9 ± 0,2
	5 a 10	0,4 ± 0,0	0,3 ± 0,0	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,1
Mg <sup>2+</sup> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0 a 5	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1
	5 a 10	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Al <sup>3+</sup> cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0 a 5	0,9 ± 0,3	0,4 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	5 a 10	1,0 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
H + Al cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0 a 5	12,3 ± 0,2	12,4 ± 0,3	3,2 ± 0,1	3,1 ± 0,1
	5 a 10	12,1 ± 0,3	11,1 ± 0,4	3,5 ± 0,1	3,4 ± 0,1

Valores médios das propriedades físico químicas do solo com seus desvios padrões

As alterações nas características químicas do solo, foram dependentes da profundidade e do ecossistema. Os valores de pH foram maiores no sistema com soja e cana quando comparados com Cerradão e pinus. Cerradão e pinus apresentaram valores de pH similares. As maiores concentrações de carbono total no solo (COT) foram encontrados no cerradão e no pinus. Em geral, os resultados mostram que a concentração de carbono na camada de 0-5 cm é maior que na camada de 5-10 cm, não diferindo nos agroecossistema soja e cana. Os valores de nitrogênio total encontrados foram maiores no cerradão e os menores encontrados na floresta de pinus (Tabela 2). Os resultados de nitrogênio total, em geral, foram menores na camada de 5-10 cm em todos os ecossistemas. A concentração de P disponível no solo foi maior no agroecossistema



soja do que as concentrações obtidas nos demais, sendo que os menores valores de P disponível foram encontrados na camada de 5-10 cm, exceto no sistema da cana. Os valores de K, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> disponíveis no solo foram maiores nos agroecossistemas (soja e cana) do que no cerradão e pinus. As concentrações de Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> encontradas foram muito baixas no cerradão e pinus. Esses nutrientes tendem a ter menores níveis na camada de 5-10 cm nos agroecossistemas. Os resultados mostram que os valores para Al<sup>3+</sup> foram corrigidos nos agrossistemas soja e cana. Os resultados mostram que os indicadores microbianos alteram com o ecossistema e com a profundidade das amostragens (Tabela 3) mas as alterações dependem da variável analisada.

Tabela 3: Indicadores microbianos do solo em duas profundidades e diferentes ecossistemas no Cerrado.

Ecossistema	Profundidade (cm)	Indicadores				
		RMS	CBM	qCO <sub>2</sub>	NBM	DHA
Cerradão	0 a 5	51 aA	924 aA	0,055 cA	46 aA	46 aA
	5 a 10	34 aB	744 aA	0,046 cA	36 aA	40 aA
Pinus	0 a 5	35 bA	469 bA	0,074 cA	17 bA	50 aA
	5 a 10	25 aB	221 bB	0,113 bA	11 bA	26 bB
Soja	0 a 5	36 bA	189 bA	0,190 bA	21 bA	29 bA
	5 a 10	25 aB	235 bA	0,106 bB	4 bB	28 bA
Cana	0 a 5	48 abA	201 bA	0,239 aB	7 bA	27 bA
	5 a 10	33aB	90 bA	0,366 aA	5 bA	19 bB

Respiração Microbiana do Solo, RMS (C-CO<sub>2</sub> mg kg<sup>-1</sup> solo dia<sup>-1</sup>). Carbono da Biomassa Microbiana, CBM (C mg kg<sup>-1</sup> solo). Quociente Metabólico, qCO<sub>2</sub> (dia). Nitrogênio da Biomassa Microbiana, NBM (N mg kg<sup>-1</sup> solo). Desidrogenase, DHA (ug formazan g<sup>-1</sup> de solo). Letras minúsculas diferentes diferem significativamente entre ecossistemas na mesma profundidade. Letras maiúsculas diferentes diferem significativamente dentro de cada sistema com a profundidade. As médias foram confrontadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A RMS foi significativamente maior no cerradão do que nos demais ecossistemas, exceto para a cana. Na profundidade de 5-10 cm, os valores de RMS foram significativamente menores do que na camada de 0-5 cm. Os valores de CBM no solo no cerradão diferiram significativamente dos valores encontrados nos demais ecossistemas, sendo encontrada diferença significativa somente na profundidade 5-10

cm do CBM no sistema pinus. Os valores de  $qCO_2$  foram significativamente maiores nos sistemas soja e cana quando comparado com cerradão e pinus, porém as diferenças de cada sistema quando comparados pela profundidade não foram significativas. O NBM foi significativamente maior para o sistema cerradão quando comparado com os demais sistemas. Os valores de NBM de cada sistema não foram significativos em relação à profundidade avaliada, exceto no sistema soja, onde a camada de 0-5 cm foi superior à da camada de 5-10 cm de profundidade. Os valores de DHA foram significativamente maior no sistema cerradão e pinus na camada de 0-5 cm em relação aos demais ecossistemas. Porém na camada de 5-10 cm somente o sistema cerradão foi significativamente superior aos demais sistemas. Para pinus e cana, os dados revelam uma diferença significativa entre as profundidades, sendo maior para a camada de 0-5 em relação a camada de 5-10 cm.

#### **4.2. Modelagem da atividade da fosfatase no solo**

As análises de regressão plotada para o modelo de Michaelis-Menten são apresentados nas Figuras 1 e 2 nos diferentes ecossistemas nas profundidades de 0-5 e 5-10 cm, respectivamente. As maiores respostas da atividade da fosfatase em função da concentração de substrato (p-PNP) foram observadas no cerradão nas duas profundidades, seguido pela floresta de pinus. Para os sistemas soja e cana as respostas foram similares. Os parâmetros calculados pelo modelo de Michaelis-Menten são apresentados na Tabela 4. Os resultados mostram um alto coeficiente de regressão ( $R^2$ ) com valores  $> 0,89$ . Todos os parâmetros das equações foram significativos quando utilizados o teste t ( $p < 0,001$ ). Porém os menores ajustes ocorreram na camada de 5-10 cm em todos os ecossistemas analisados. Apesar dos agroecossistemas apresentarem fosfatase com mais afinidade ao substrato, a área do cerradão apresenta maior atividade da enzima, indicando maior quantidade no solo (Tabela 5), pois quanto maior a biomassa (CBM, NBM) maior a heterogeneidade e quantidade de fosfatase.

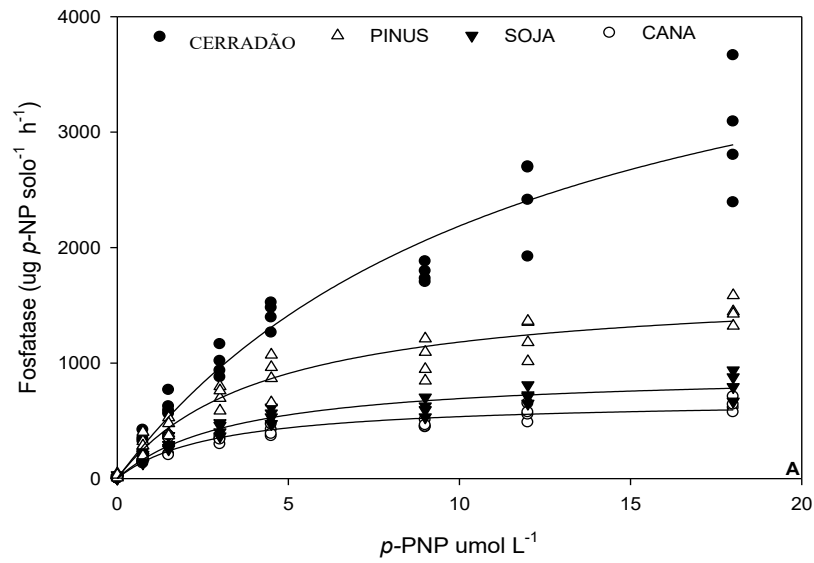


Figura 1: Resposta da atividade de fosfatase pelo modelo de Michaelis-Menten no solo em função da concentração de substrato em diferentes ecossistemas do Cerrado na profundidade de 0-5 cm. Os símbolos que identificam os respectivos ecossistemas referem-se as repetições dos ensaios das amostras de campo.

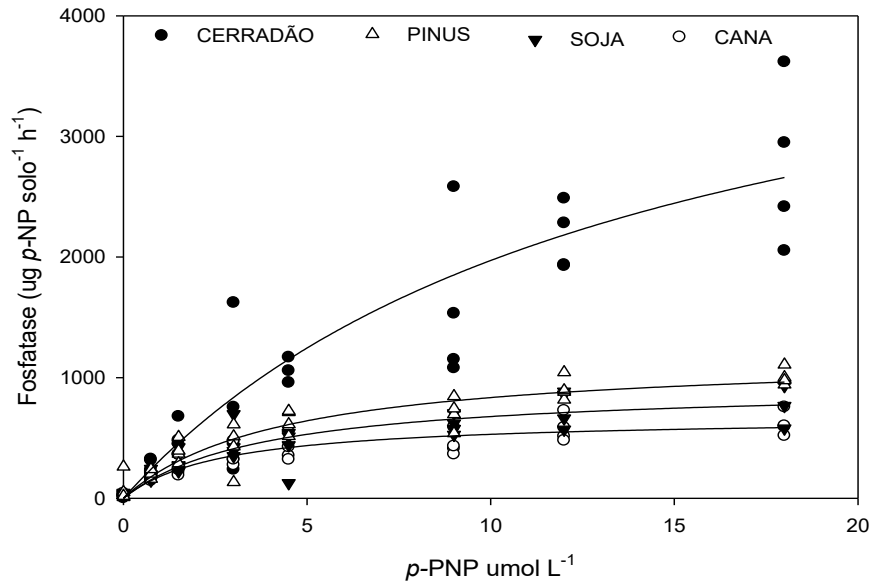


Figura 2: Resposta da atividade de fosfatase pelo modelo de Michaelis-Menten no solo em função da concentração de substrato em diferentes ecossistemas do Cerrado na profundidade de 5-10 cm. Os símbolos que identificam os respectivos ecossistemas referem-se as repetições dos ensaios das amostras de campo.

Tabela 4: Equação de regressão de Michaelis-Menten em função de diferentes ecossistemas e profundidades no Cerrado.

Sistema	Profundidade (cm)	Equação	R <sup>2</sup>
Cerradão	0 a 5	$V = 4838^* \times [S] / 12,1^* + [S]$	0,9698
	5 a 10	$V = 4719^* \times [S] / 13,9^* + [S]$	0,8928
Pinus	0 a 5	$V = 1686^* \times [S] / 4,26^* + [S]$	0,9665
	5 a 10	$V = 1192^* \times [S] / 4,28^* + [S]$	0,9287
Soja	0 a 5	$V = 932^* \times [S] / 3,45^* + [S]$	0,9724
	5 a 10	$V = 938^* \times [S] / 3,85^* + [S]$	0,8958
Cana	0 a 5	$V = 688^* \times [S] / 2,84^* + [S]$	0,9646
	5 a 10	$V = 674^* \times [S] / 2,73^* + [S]$	0,9213

Valores médios dos parâmetros cinéticos indicados acima (\*) são significativos pelo teste “t” (p<0,001).

Os valores dos parâmetros cinéticos da equação de regressão de Eadie-Hofstee dependeram do sistema e da profundidade (Figuras 3 e 4). Todos os parâmetros cinéticos foram significativos (p<0,01) para a equação Eadie-Hofstee quando usado o teste “t”. Os coeficientes de regressão (R<sup>2</sup>) variaram de 0,65 a 0,92, sendo os menores ajustes encontrados na camada de 5-10 cm. Os maiores valores do coeficiente de variação (CV) foram observados no cerradão e pinus quando comparados com o soja e cana em ambas as profundidades. Em geral os menores valores dos parâmetros foram obtidos na camada de 5-10 cm.

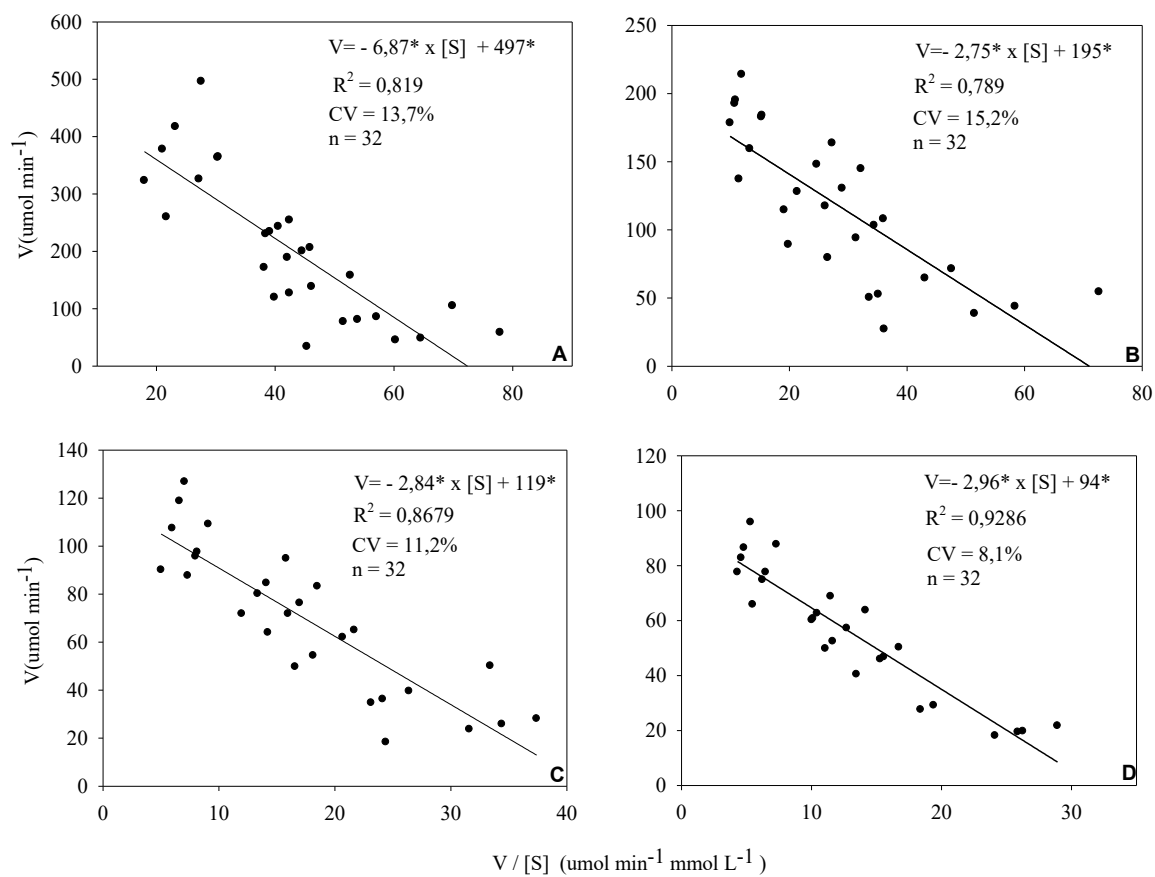


Figura 3: Resultados da cinética de Eadie-Hofstee, nos tratamentos cerradão (A), pinus (B), soja (C) e cana (D) para a profundidade de 0-5 cm. Em cada sistema é apresentado as equações definido pelo modelo Eadie-Hofstee, coeficiente de regressão ( $R^2$ ), coeficiente de variação (CV) e o número de amostras (n). Os valores dos parâmetros cinéticos seguido pelo asterisco (\*) indicam uma significância menor que 1% pelo teste “t”.

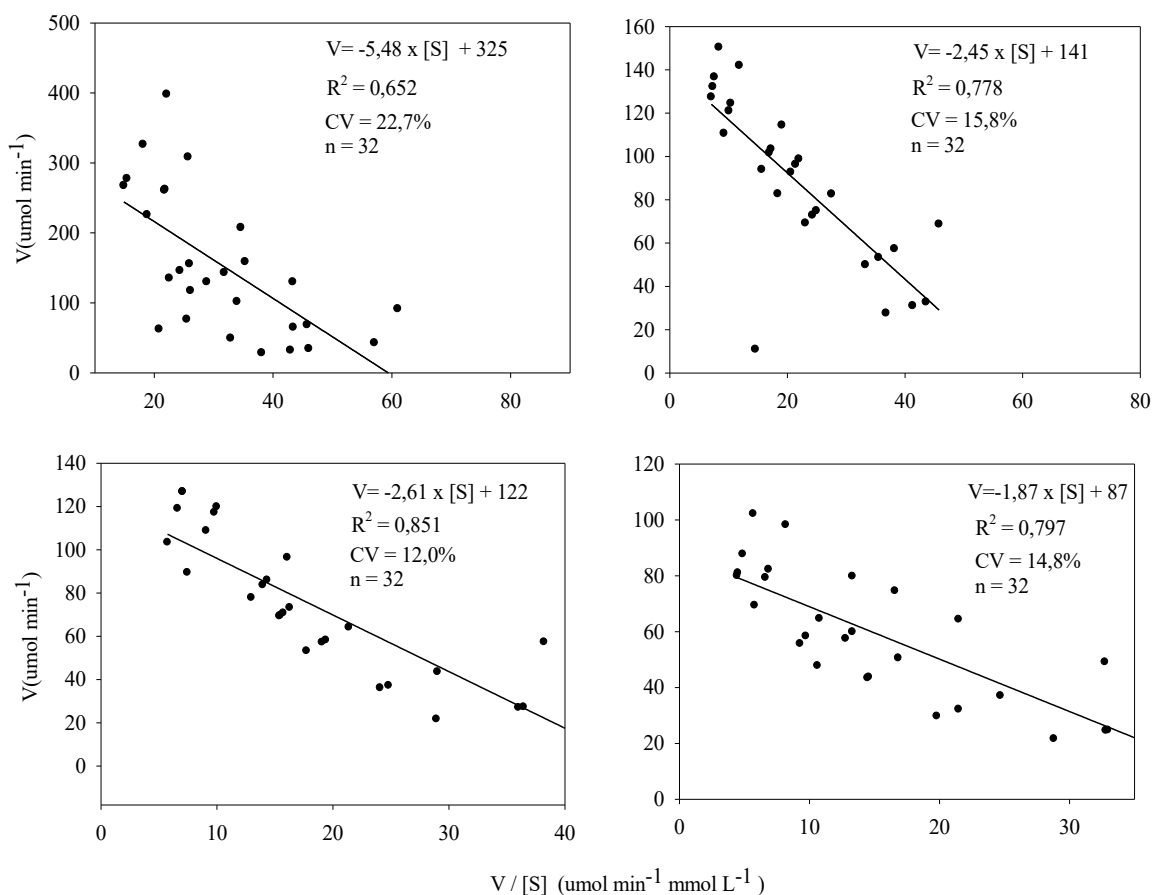


Figura 4: Resultados da Cinética de Eadie-Hofstee, nos tratamentos cerradão (A), pinus (B), soja (C) e cana (D) para a profundidade de 5-10 cm. Em cada sistema é apresentado as equações definido pelo modelo Eadie-Hofstee, coeficiente de regressão ( $R^2$ ), coeficiente de variação (CV) e o número de amostras (n). Os valores dos parâmetros cinéticos seguido pelo asterisco (\*) indicam uma significância menor que 1% pelo teste “t”.

Os valores de  $K_m$  estimados pelas equações de Michaelis-Menten e Eadie-Hofstee variaram de 1,87 a 13,94  $\mu\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1}$  em função do sistema e da profundidade (Tabela 5). Todos os valores estimados foram significativos pelo teste “t” ( $p < 0,05$ ). O modelo de Michaelis-Menten estimou valores de  $K_m$  maiores do que os verificados pelo modelo de Eadie-Hofstee, exceto no sistema cana na profundidade de 0-5 cm. Os valores de  $K_m$  do modelo de Michaelis-Menten tendem a ser maior na camada de 5-10 cm enquanto que o modelo de Eadie-Hofstee tende a ser menores nesta camada.

Tabela 5: Resultados de  $K_m$  por Michaelis-Menten e por Eadie-Hofstee em função de diferentes ecossistemas e profundidades no Cerrado.

Sistema	Profundidade (cm)	Michaelis-Menten	p	Eadie-Hofstee	p
Cerradão	0 a 5	12,12	0,0001	6,87	0,0001
	5 a 10	13,94	0,0404	5,48	0,0002
Pinus	0 a 5	4,26	0,0001	2,75	0,0001
	5 a 10	4,28	0,0002	2,64	0,0001
Soja	0 a 5	3,45	0,0001	2,84	0,0001
	5 a 10	3,85	0,0015	2,61	0,0001
Cana	0 a 5	2,84	0,0001	2,96	0,0001
	5 a 10	2,73	0,0002	1,87	0,0001

Valores médios do  $K_m$  seguido pelo nível de probabilidade (p), que foram calculados pelo teste “t” usando o programa sigmaPlot 10.0.

#### 4.3. Correlação de indicadores de qualidade do solo e o $K_m$

Todas as correlações testadas dos  $K_m$  com os indicadores foram altamente significativas exceto a correlação de RMS com o  $K_m$  de Michaelis-Menten (Tabela 6).

Tabela 6: Correlação de Pearson (r) dos valores de  $K_m$  com os indicadores do solo.

Indicadores	Constante de afinidade de Reação ( $K_m$ )	
	Michaelis-Menten	Eadie-Hofstee
COT	0,71**	0,74**
NT	0,72**	0,74**
RMS	0,30 <sup>ns</sup>	0,42*
CBM	0,75**	0,86**
NBM	0,75**	0,79**
DHA	0,47**	0,50**

As correlações seguidas por asteriscos indicam significância a 5% (\*), 1% (\*\*) e a não-significância (ns) de acordo com o teste t-student. COT, carbono orgânico total; NT, nitrogênio total; RMS, respiração microbiana do solo; CBM, carbono da biomassa microbiana; NBM, nitrogênio da biomassa microbiana; DHA, desidrogenase.

As correlações de COT e NT do solo foram significativamente altas para ambos os  $K_m$ . O NBM e o CBM também apresentaram altas correlações com os  $K_m$  estimados pelas equações de Michaelis-Menten e Eadie-Hofstee. As correlações de RMS e DHA com  $K_m$  foram as que apresentaram menores valores. Em geral, as correlações dos indicadores do solo avaliados com  $K_m$  de Eadie-Hofstee foram superiores quando comparados com as correlações de Michaelis-Menten.

## 5. DISCUSSÃO

Este estudo é um dos primeiros relatos que mostra os parâmetros cinéticos da fosfatase em quatro sistemas de uso da terra e em duas profundidades no bioma Cerrado. Neste estudo foi avaliado o sistema de uso sob um Latossolo com características de textura similar dentro de uma mesma classificação climática segundo Köppen (ALVARES et al., 2013). Portanto, as diferenças nos parâmetros cinéticos são acreditados serem decorrentes dos sistemas de uso do solo e da profundidade. Os resultados mostram que os dois modelos usados apresentam diferenças dos parâmetros cinéticos em decorrência do uso do solo e das profundidades analisadas. Os sistemas de uso do solo utilizados neste trabalho são de grande importância para o setor agrícola brasileiro e em especial na região do bioma Cerrado, sendo os dados obtidos importantes para elucidar a dinâmica do P no solo.

### 5.1 Indicadores da qualidade do solo

Os resultados mostram que existem diferenças dos atributos químicos e microbianos no solo, os quais dependem dos sistemas de uso do solo e das profundidades. Em geral, as concentrações de nutrientes (P,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  e  $Mg^{2+}$ ) foram expressivamente maiores nos sistemas com soja e cana, decorrentes das constantes adições de nutrientes para o cultivo das culturas. Menores concentrações destes nutrientes foram detectadas na camada de 5-10 cm. Estes resultados coincidem com os relatos da literatura para o bioma Cerrado (VINHAL-FREITAS et al., 2013; 2017).

Reduções do COT de 34,5% (pinus), 38,4% (soja e cana) foram observados na camada de 0-5 cm quando comparados com o cerradão. Na camada de 5-10 cm as reduções do COT foram de 47,7%, 30,1% e 23,4% nos sistemas pinus, soja e cana,



respectivamente. O COT é um dos principais indicadores da qualidade do solo, pois a matéria orgânica é um dos principais componentes do solo que interfere nas propriedades físicas, químicas e biológicas (STEVENSON, 1994; VINHAL-FREITAS et al., 2017). Os maiores valores de NT também foram encontrados no sistema cerrado, isto pode indicar que a reserva de NT está associada principalmente à matéria orgânica. Assim, a mineralização do nitrogênio orgânico pode exercer uma grande influência sobre a atividade dos micro-organismos do solo (MARGALEF et al., 2017). Os resultados dos indicadores microbianos, como RMS, CBM, NBM e DHA mostram que os agroecossistemas têm um impacto negativo sobre estes indicadores quando comparado com o cerrado. Em geral, os valores dos indicadores microbianos foram menores na camada de 5-10 cm. Valores maiores de  $qCO_2$  foram encontrados na camada de 5-10 cm e nos sistemas soja e cana. Altos de valores de  $qCO_2$  é um indicativo de menor eficiência de uso do carbono orgânico do solo, os quais estão relacionados com os indicadores microbianos avaliados (ANDERSON; DOMSCH, 1993).

## **5.2. Modelagem dos parâmetros cinéticos da atividade da fosfatase no solo**

A modelagem dos parâmetros cinéticos da atividade da fosfatase do solo foi dependente do modelo usado, dos ecossistemas e da profundidade de amostragem do solo. Comparativamente, os valores de  $K_m$  determinados pelo modelo de Eadie-Hofstee foram menores que os obtidos pelo modelo de Michaelis-Menten, indicando que os valores determinados por Eadie-Hofstee têm uma maior afinidade da fosfatase ao substrato. Poucos relatos têm mostrado estas comparações da atividade de fosfatase no solo (FERREIRA et al., 2016), sendo a maioria dos estudos feitos usando somente o modelo de Michaelis-Menten (STONE; PLANTE, 2014; TABATABAI, 1994). O modelo de Michaelis-Menten é uma resposta hiperbólica da reação da atividade da fosfatase ao substrato, enquanto que o modelo de Eadie-Hofstee é uma equação linear. Assim, diferenças dos valores obtidos de  $K_m$  podem ser justificado pelo modelo usado. Porém, os dois modelos mostram a mesma tendência de valores quando se compara os ecossistemas, obtendo se os maiores valores no cerrado seguido de pinus. Os maiores valores de  $K_m$  nestes dois sistemas podem indicar que no total de enzimas existem diferentes tipos de isoformas, as quais podem aumentar os valores de  $K_m$ . O modelo de Eadie-Hofstee tem como vantagem mostrar as variações de afinidade da atividade da

enzima com o substrato, devido à dispersão dos dados medido pelo coeficiente de variação (FERREIRA et al., 2016). Neste trabalho foi detectado que o modelo de Eadie-Hofstee mostra maiores diferenças entre as profundidades, mostrando menores valores de  $K_m$  na camada de 5-10 cm. Estas diferenças não foram observadas consistentemente pelo modelo de Michaelis-Menten. Assim, a modelagem cinética da fosfatase do solo pelo modelo de Eadie-Hofstee deve ser incluída em estudos envolvendo os ecossistemas e as diferentes profundidades de amostragem de solo, como verificado neste primeiro relato aplicando este modelo.

### **5.3. Correlação de indicadores de qualidade do solo e $K_m$**

Neste trabalho encontrou-se altas correlações de  $K_m$  com os principais indicadores de qualidade do solo. Os resultados mostram que o COT teve uma alta correlação com o  $K_m$  para os dois modelos avaliados. Muitos relatos na literatura têm mostrado esta correlação da atividade da fosfatase com a matéria orgânica do solo, porém os valores neste trabalho foram superiores ao da literatura (MARGALEF et al., 2017). Os altos valores encontrados podem ter ocorrido devido aos ecossistemas pertencerem as mesmas condições edafoclimáticas. As correlações de COT e atividade da fosfatase dependem de muitos fatores como temperatura, umidade, limitação de nutriente e profundidade (MARGALEF et al., 2017). Os estudos reportam também que esta correlação pode estar associada aos diferentes substratos de fósforo orgânico ( $P_{org}$ ) no solo. Diferentes substratos podem induzir a comunidade microbiana do solo a produzir uma maior quantidade de fosfatases, incluindo isoformas da enzima (CALDWELL, 2005; J.C.D., 1967).

Os estudos mostram também que a atividade da fosfatase tem uma alta correlação com o NT do solo, principalmente nos biomas tropicais e solos mais intemperizados (CALDWELL, 2005; J.C.D., 1967; MARGALEF et al., 2017). Isto tem ganhado evidências que o N é um elemento limitante às transformações dos nutrientes no solo mediadas pelas atividades dos micro-organismos (RATLIFF; FISK, 2016). Acoplar o NT e a atividade da fosfatase parece ser um indicador importante na avaliação da qualidade do solo nos ecossistemas (RATLIFF; FISK, 2016). A maior parte do NT nos biomas tropicais está associado a matéria orgânica do solo, sendo assim necessário ocorrer as transformações de mineralização do N pelos micro-organismos e sua assimilação pelas plantas e comunidade microbiana. É importante destacar para que

ocorra as transformações de nitrogênio orgânico depende também de fontes transformáveis de P no solo. Muitos relatos têm mostrado que o P é um elemento limitante e essencial para a produtividade dos ecossistemas (CLEVELAND et al., 2002; FERREIRA et al., 2016). No presente trabalho, os resultados mostram que os  $K_m$  de ambos os modelos tiveram uma alta correlação, principalmente com CBM e NBM. Isto mostra que as transformações e os indicadores microbianos no solo estão associados à atividade da fosfatase, indicando também que a associação de COT, NT, e P devem ser acoplados para entender melhor os processos ecológicos do solo nos ecossistemas tropicais (RATLIFF; FISK, 2016).

Comparativamente, os resultados mostram que o modelo de Eadie-Hofstee tende a aumentar os valores de correlação entre o  $K_m$  da atividade de fosfatase com os indicadores de qualidade do solo quando comparado ao modelo de Michaelis-Menten. O modelo de Eadie-Hofstee pode detectar maiores diferenças dos ecossistemas em função da profundidade de amostragem, sendo os valores de  $K_m$  menores na camada de 5-10 cm assim como os valores detectados dos indicadores de qualidade de solo nesta mesma profundidade. Esta maior correlação do modelo de Eadie-Hofstee pode ter ocorrido em função do  $K_m$  ser calculado por uma equação de regressão linear, portanto não está associado a sua determinação por uma estimativa do  $V_{max}$  da atividade como descreve o modelo de Michaelis-Menten. Assim, acredita-se que a equação de Eadie-Hofstee pode fazer uma melhor estimativa de correlação com os indicadores microbianos do solo.

#### **5.4. Ecossistemas e profundidade do solo**

Neste trabalho foi usado um cerradão que apresenta uma alta densidade de plantas e uma grande diversidade de espécies vegetais (VINHAL-FREITAS et al., 2013). Este ecossistema é considerado um cerrado em estágio de clímax. Esta fisionomia ocorre no Cerrado principalmente em solos mais argilosos, nos quais é comum encontrar maiores teores de matéria orgânica no solo (BATLLE-BAYER et al., 2010). Assim, acredita-se que a serapilheira depositada sobre o solo exerce um papel chave na ciclagem de nutrientes nas camadas superficiais do solo. Isto justifica os maiores valores encontrados da atividade da fosfatase neste bioma como relatado também por Vinhal-Freitas et al., (2017).

A área utilizada do ecossistema pinus caracteriza-se por uma densa floresta contendo uma espessa camada de serapilheira. Muitos relatos mostram que a serapilheira de pinus é de difícil decomposição e mineralização do carbono orgânico, devido sua composição ser constituída principalmente de celulose, lignina e fenóis (SILVA, 2008). Porém, os resultados deste trabalho mostram um maior valor da atividade de fosfatase quando comparado com os outros agroecossistemas. Este resultado pode estar associado, possivelmente, a fatores como temperatura e umidade mais estáveis. Além disso, as árvores de pinus têm associações simbióticas com ectomicorrizas as quais podem produzir uma maior quantidade de fosfatase no solo (MARGALEF et al., 2017). Os agroecossistemas soja e cana são caracterizados pela monocultura de plantas de caráter metabólico C3 e C4, respectivamente. No entanto, as atividades da fosfatase modelada pelos modelos estudados apresentaram valores similares. Estes baixos valores encontrados são reflexos, possivelmente, das perdas de matéria orgânica no solo e da menor diversidade da comunidade microbiana, diminuindo a disponibilidade de substrato e a quantidade de fosfatase e isoformas desta enzima no solo (MARGALEF et al., 2017).

O estudo mostrou os parâmetros cinéticos em duas camadas (0-5 e 5-10 cm) de profundidade no solo. Muitos dos relatos na literatura sobre indicadores microbianos têm sido feitos na camada de 0-10 ou de 0-20 cm e poucos estudos têm sido realizados para analisar, comparativamente, as camadas mais superficiais do solo (VINHAL-FREITAS et al., 2017). Estudar as camadas mais superficiais pode ser um melhor indicativo para separar os sistemas de uso do solo, por devido estas camadas serem mais sujeitas a modificações por fatores abióticos e bióticos do solo (SYLVIA et al., 1999; VINHAL-FREITAS et al., 2017).

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados mostraram que os ecossistemas e a profundidade têm impacto importante sobre a atividade da fosfatase no solo. Todos os indicadores de qualidade do solo usados foram afetados pelo sistema de uso da terra, encontrando-se os menores valores em monoculturas em agroecossistemas. O presente trabalho mostrou que os parâmetros cinéticos da fosfatase estão fortemente correlacionados com os indicadores

de qualidade do solo; porém, estes são dependentes do modelo usado. O modelo de Michaelis-Menten tende a apresentar maiores valores de  $K_m$  quando comparado com o modelo de Eadie-Hofstee. A modelagem usando o modelo de Eadie-Hofstee detectou maiores diferenças de  $K_m$  em relação a profundidade de amostragem entre os ecossistemas. Este apresenta também uma maior correlação com os indicadores de qualidade do solo. Assim, o presente trabalho mostrou que a modelagem da atividade da fosfatase no solo pode ser um indicador importante na diferenciação dos ecossistemas nas camadas superficiais do solo. Os dados são importantes para melhor conhecer sobre a dinâmica do P em diferentes sistemas de uso do solo no bioma Cerrado.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA-MARTINEZ, V.; TABATABAI, M. A. Phosphorus cycle enzymes. **Soil Science Society of America**, Madison, WI, p. 161-175, 2011. Disponível em: <<https://portal.sciencesocieties.org/resources/files/downloads/pdf/b60938.pdf>>. Acesso em: mar. 2017.

ALBRECHT, R.; PETITT, J. L.; CALVERT, V.; TERROM, G. R.; RISSOL, P. C. Changes in the level of alkaline and acid phosphatase activities during green wastes and sewage sludge co-composting. **Bioresource Technology**, Barking, Essex, England, v. 101, n. 1, p. 228-233, 2010. Disponível em: <doi:10.1016/j.biortech.2009.08.017>. Acesso em: abr. 2017.

ALLISON, S. D.; WALLENSTEIN, M. D.; BRADFORD, M. A. Soil-carbon response to warming dependent on microbial physiology. **Nature Geoscience**, London, n. 3, p. 336-340, 2010. Disponível em: <doi:10.1038/ngeo846>. Acesso em: dez. 2016.

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013. Disponível em: <doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>. Acesso em: mar. 2017.

ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient ( $qCO_2$ ) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology Biochemistry**, Elmsford, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993. Disponível em: <doi.org/10.1016/0038-0717(93)90140-7>. Acesso em: jan. 2017.

ANDERSON, T. H., DOMSCH, K. H. Soil microbial biomass: The eco-physiological approach. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v. 42, p. 2039-2043, 2010. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.06.026>. Acesso em: mar. 2017.

ANDREWS, S. S.; KARLEN, D. L.; CAMBARDELLA, C. A. The soil management assessment framework: A quantitative soil quality evaluation method. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, WI, v. 68, n. 6, p. 1945-1962, 2004. Disponível em: <doi:10.2136/sssaj2004.1945>. Acesso em: maio 2017.

ARAÚJO, A. P.; MACHADO, C. T. T. Fósforo. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 253-280.

ARRUDA, J. C. **Balço de energia em uma área de floresta tropical de transição na região de Sinop em Mato Grosso, entre agosto de 1999 a maio de 2003**. 2004. 75 f. Dissertação (Mestrado em Física e Meio Ambiente) Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2004. Disponível em: <file:///D:/Biblioteca%20Edmilson/Downloads/Thiago%20Rangel%20Rodrigues\_.pdf>. Acesso em: jun. 2017.

ARSHAD, M. A.; MARTIN, S. Identifying critical limits for soil quality indicators in agri-ecosystems. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 88, p. 153-160, 2002. Disponível em: <doi:10.1016/S0167-8809(01)00252-3>. Acesso em: abr. 2017.

ATLAS, R. M.; BARTHA, R. **Microbial ecology: fundamentals and applications**. [S.l]. Benjamin Cummings, 1997, 533 p.

BADIANE, N. N. Y.; CHOTTE, J. L.; PATE, E.; MASSE, D.; ROULAND, C. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. **Applied Soil Ecology**, v. 18, p. 229-238, 2000. Disponível em: <doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00159-7>. Acesso em: maio 2017.

BALDOCCHI, D. D.; TANG, J.; XU, L. How switches and lags in biophysical regulators affect spatio-temporal variation of soil respiration in an oak-grass Savanna. **Journal Geophysical Research Biogeosciences**, Gottingen, v. 111, p. 1-13, 2006. Disponível em: <doi:10.1029/2005JG000063>. Acesso em: jan. 2017.

BARTON, L.; GLEESON, D. B.; MACCARONE, L. D.; ZÚÑIGA, L. P.; MURPHY, D. V. Is liming soil a strategy for mitigating nitrous oxide emissions from semi-arid soils? **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 62, p. 28-35, 2013. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.02.014>. Acesso em: jun. 2017.

BATLLE-BAYER, L.; BATJES, N. H.; BINDRABAN, P. S. Changes in organic carbon stocks upon land use conversion in the Brazilian Cerrado. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 137, p. 47-58, 2010. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.agee.2010.02.003>. Acesso em: jan. 2017.

BLACK, C. A. (Ed.). Methods of soil analysis. Madison: **American Society of Agronomy**, 1965.

- BLUM, W. E. H. Functions of soil for society and the environment. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 4, p. 75-79, 2005. Disponível em: <doi.org/10.1007/s11157-005-2236-x>. Acesso em: abr. 2017.
- BOERNER, R. E. J.; DECKER, K. L. M.; SUTHERLAND, E. K. Prescribed burning effects on soil enzyme activity in a southern Ohio hardwood forest: a landscape-scale analysis. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 32, p. 899-908, 2000. Disponível em: <doi:10.1016/S0038-0717(99)00208-4>. Acesso em: maio 2017.
- BORLAUG, N. E. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. **Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, Leicester, UK, v. 38, n. 2, p. 221-228, 2002. Disponível em: <doi:10.1079/IVP2001279>. Acesso em: maio 2017.
- BOYD, J.; BANZHAF, S. What are ecosystem services? The need for standardized environmental accounting units. **Ecological Economics**, Amsterdam, v. 63, p. 616-626, 2007. Disponível: <doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.01.002>. Acesso: abr. 2017.
- BRADY, N. C.; Weil, R. R. **The Nature and properties of soils**. Pearson Prentice Hall, 2008.
- BROOKES, P. C.; POWLSON, D. S.; JENKINSON, D. S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 14, p. 319-329, 1984. Disponível: <doi.org/10.1016/0038-0717(82)90001-3>. Acesso: mar. 2017.
- BROOKS, D. D.; TWIEG, B. D.; GRAYSTON, S. J.; JONES, M. D. Physical extent, frequency, and intensity of phosphatase activity varies on soil profiles across a Douglas-fir chronosequence. **Soil Biology Biochemistry**, Elmsford, v. 64, p. 1-8, 2013. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.04.006>. Acesso em: abr. 2017.
- BROWNE, P. et al. Superior inorganic phosphate solubilization is linked to phylogeny within the *Pseudomonas fluorescens* complex. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 131-138, 2009. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.06.010>. Acesso em: maio 2017.
- CALDWELL, B. A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. **Pedobiologia**, Jena, v. 49, n. 6, p. 637-644, 2005. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.pedobi.2005.06.003>. Acesso em: jan. 2017.
- CARPENTER, S. R. Eutrophication of aquatic ecosystems: bistability and soil phosphorus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, San Francisco, v. 102, p. 10002-10005. 2005. Disponível em: <doi.org/10.1073/pnas.0503959102>. Acesso em: jan. 2017.
- CASTRO, A. J. F. Cerrados do Brasil e do Nordeste: caracterização, área de ocupação e considerações sobre a sua fitodiversidade. **Pesquisa Foco**, São Luís, MA, v. 7, n. 9, p. 147-178, 1999.

CEULEMANS, T.; MERCKX, R.; HENS, M.; HONNAY, O. A trait-based analysis of the role of phosphorus vs. nitrogen enrichment in plant species loss across North-west European grasslands. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 48, p. 1155-1163, 2011. Disponível em: <doi.org/10.1111/j.1365-2664.2011.02023.x>. Acesso em: mar. 2017.

CLEVELAND, C. C.; TOWNSEND, A. R.; SCHMIDT, S. K. **Phosphorus limitation of microbial processes in moist tropical forests**: evidence from short-term laboratory incubations and field studies. *Ecosystems* v. 5, n. 7, p. 680-691, 2002. Disponível em: <doi.org/10.1007/s10021-002-0202-9>. Acesso em: abr.2017.

CONTE, E.; ANGHINONI, I.; RHEINHEIMER, D. S. Phosphorus in the microbial biomass and acid phosphatase activity by phosphate application in soil under no-tillage system. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, n. 4, p. 925-930, 2002. Disponível em: <doi.org/10.1590/S0100-06832002000400009>. Acesso em: fev. 2017.

CRIQUET, S.; BRAUD, A. Effects of organic and mineral amendments on available P and phosphatase activities in a degraded Mediterranean soil under short-term incubation experiment. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 98, n. 2, p. 164-174, 2008. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.still.2007.11.001>. Acesso em: abr. 2017.

DICK, R. P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. In: Doran, J. W.; Coleman, D. C.; Bezdicek, D. F.; Stewart, B. A. Defining soil quality for a sustainable for a sustainable environment. **Soil Science Society of America journal**, Madison, p. 107-124. 1994.

DICK, R. P.; TABATABAI, M. A. Significant and potential uses of soil enzymes. In: Metting, F. B. (Ed.). **Soil microbial ecology**: Application in agriculture and environment management. Marcel Dekker, New York, pp. 1993.

DORAN, J. L.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: Doran, J. W.; Coleman, D. C.; Bezdicek, D. F.; Stawart, B. A. Defining soil quality for a sustainable environment. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, WI, p. 3-21, 1994. Disponível em: <doi.org/10.2136/sssaspecpub35.c1>. Acesso em: jan. 2017.

DORAN, J. W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, WI, v. 44, p. 765-771, 1980.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, WI, p. 25-27, 1996.

EIVAZI, F.; BAYAN, M. R. Effects of long-term prescribed burning on the activity of select soil enzymes in an oak-hickory forest. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 26, p. 1799-1804, 1996. Disponível em: <doi:10.1139/x26-204> Acesso em: maio 2017.

ELSER, J. J. et al. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. **Ecology Letters**, Oxford, v. 10, n. 12, p. 1135-1142, 2007. Disponível: <doi/10.1111/j.1461-0248.2007.01113.x>. Acesso em: jan. 2017.



EMBRAPA. **Levantamento de reconhecimento de média intensidade dos solos e avaliação da aptidão agrícola das terras do Triângulo Mineiro**. Rio Janeiro: EMBRAPA/SNLCS/EPAMG/DRNR, 1981.

EMBRAPA. **Sistema brasileira de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro. EMBRAPA, 2006, 306p.

ERNANI, P. R.; STECKLING, C.; BAYER, C. Características químicas de solo e rendimento de massa seca de milho em função do método de aplicação de fosfatos, em dois níveis de acidez. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 939-946, 2001.

FERREIRA, A. S.; CAMARGO, F. A. O.; VIDOR, C. Utilização de micro-ondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Campinas, v. 23, p. 991-996, 1999.

FERREIRA, A. S.; SANTOS, M. A.; CORRÊA, G. F. Soil microbial response to glucose and phosphorus addition under agricultural systems in the Brazilian Cerrado. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, RJ, v. 85, p. 395-404, 2013. Disponível em: <[doi.org/10.1590/S0001-37652013005000021](https://doi.org/10.1590/S0001-37652013005000021)>. Acesso em: maio 2017.

FERREIRA, A. S.; ESPINDOLA, S. P.; CAMPOS, M. R. C. Assessment and kinetics of soil phosphatase in Brazilian Savanna systems. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, RJ, v. 88, n. 2, p. 1035-1044, 2016. Disponível em: <[doi.org/10.1590/0001-3765201620140033](https://doi.org/10.1590/0001-3765201620140033)>. Acesso em: abr. 2017.

FIALHO, C. M. T. **Interação entre micro-organismos do solo, plantas daninhas e as culturas do milho e da soja**. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa. UFV. Viçosa. 2013. 75 f. Disponível em: <<http://locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/1201/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: jun. 2017.

FISCHER, H.; MEYER, A.; FISCHER, K.; KUZUYAKOV, Y. Carbohydrate and amino acid composition of dissolved organic matter leached from soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 39, p. 2926-2935, 2007. Disponível em: <[doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.06.014](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.06.014)>. Acesso em: jan. 2017.

GARCIA, C. et al. Microbial activity in soils of SE Spain exposed to degradation and desertification processes. Strategies for their rehabilitation. In: Garcia, C.; Hernandez, M.T. (eds). **Research and Perspectives of soil enzymology in Spain**, Murcia: CEBAS-CSIC. p. 93-146, 2003.

GEE, G. W.; BAUDER, J. W. Particle-size analysis. In: Klute, A. et al. (eds). **Methods of soils analysis**. Part 1. SSSA Book Ser. 5. SSSA and ASA. Madison, WI. 1986. Disponível em: <<https://lter.kbs.msu.edu/protocols/108>>. Acesso em: dez. 2016.

- GIL-SOTRES, F. C.; TRASAR-CEPEDA, M. C.; LEIROS, and S. Seoane. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 37, p. 877-887, 2005. Disponível em: <doi:10.1016/j.soilbio.2004.10.003>. Acesso em: maio 2017.
- GOMEZ, A. A.; KELLY, D. E. S.; SYERS, J. K.; COUGHLAN, K. J. Measuring sustainability of agricultural systems at the farm level. In: J.W. Doran and A. J. Jones, editors, **Methods for assessing soil quality**. SSSA Spec. Publ. 49. SSSA, Madison, WI. p. 401-410, 1996.
- GNANKAMBARY, Z. et al. Nitrogen and phosphorus limitation of soil microbial respiration in two tropical agroforestry parklands in the south-Sudanese zone of Burkina Faso: The effects of tree canopy and fertilization. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 40, n. 2, p. 350-359, 2008. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.08.015>. Acesso em: dez. 2016.
- GORDON, H.; HAYAGARTH, P.M.; BARDGETT, R.D. Drying and rewetting effects on soil microbial community composition and nutrient leaching. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 40, p. 302-311, 2008. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.08.008>. Acesso em: dez. 2016.
- GROGAN, P.; JONASSON, S. Temperature and substrate controls on intra-annual variation in ecosystem respiration in two subarctic. **Global Change Biology**, v. 11, p. 465-475, 2005. Disponível em: <doi:10.1111/j.1365-2486.2005.00912.x>. Acesso em: abr. 2017.
- HALSTEAD, R. L. Phosphatase activity of soils as influenced by liming and others treatments. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 44, p. 137-144, 1964. Disponível em: <doi/pdf/10.4141/cjss64-017>. Acesso em: jan. 2017.
- HAYGARTH, P.; RITZ, K. The future of soils and land use in the UK: soil systems for the provision of land-based ecosystem services. **Land Use Policy**, v. 26, p. 187-197, 2001. Supplement 1. Disponível em: <doi:10.1016/j.landusepol.2009.09.016>. Acesso em: fev. 2017.
- HENRY H. Soil extracellular enzyme dynamics in a changing climate. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 47, p. 53-59, 2012. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.12.026>. Acesso em: dez. 2016.
- HOFMAN, J.; BEZCHLEBOVÁ, J.; DUSEK, L.; DOLEZAL, L.; HILOUBEK, I.; ANDEL, P.; AANORGOVÁ, A.; MALY, S. Novel approach to monitoring of the soil biological quality. **Environment International**, v. 28, p. 771-778, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.11.020>. Acesso em: maio 2017.
- HUANG, Q.; SHINDO, H. Effects of copper on the activity and kinetics of free and immobilized acid phosphatase. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 32, p. 1885-1892, 2000. Disponível em: <doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00162-0>. Acesso em: jan. 2017.

- HUI, D.; MAYES, M. A.; WANG, G. Kinetic parameters of phosphatase: A quantitative synthesis. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 65, p. 105-113, 2013. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.05.017>. Acesso em: fev. 2017.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; CAMPO, R. A inoculação da soja, (Embrapa-CNPSo. Circular Técnica, 17; Embrapa-CPAC. **Circular Técnica**, 34; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária: Londrina, p. 28, 1997.
- ILSTEDT, U.; SINGH, S.; NORDGREN, A. Using perlite as a substrate carrier for measuring microbial available phosphorus by respiration kinetics in soils. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 43, n. 5, p. 503-510, 2007. Disponível em: <doi10.1007/s00374-006-0127-0>. Acesso em: dez. 2016.
- J., C.D. In **Soil Biochemistry** vol 1 (eds McLaren, A. & Peterson, G.) 216-228 (Dekker, 1967).
- JENSEN, H. L. The fungus flora of the soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 3, p. 123-158, p. 496, 1931. Disponível em: <http://journals.lww.com/soilsci/Citation/1931/02000/the\_Fungus\_Flora\_of\_the\_Soil.5.aspx>. Acesso em: dez. 2016.
- KISS, S.; DRAGAN-BULARDA, M.; RADULESCU, D. Biology significance of enzymes in soil. **Advence in Agronomy**, Oxford, v. 27, p. 25-91, 1975. Disponível em: <doi.org/10.1016/S0065-2113(08)70007-5>. Acesso em: jan. 2017.
- KNAPP, A. K.; FAY, P. A.; BLAIR, J. M. Rainfall variability, carbon cycling, and plant species diversity in a Mesic grassland. **Science**, New York, v. 298, p. 2202-2205, 2002. Disponível em: <doi:10.1126/science.1076347>. Acesso em: dez. 2016.
- Köppen, W. **Die klimate der erde**. Walter de Gruyter. Berlin, Leipzig, 1923.
- LADD, J.N. Origin and range of enzymes in soil. In: Burns, R.g. (Rd.). **Soil enzymes**, Academic Press, London, p. 51-96, 1978.
- LISKI, J.; NISSINEN, A.; ERHARD, M. Climatic effects on litter decomposition from arctic tundra to tropical rainforest. **Global Change Biology**, Oxford, v. 9, p. 575-584, 2003. Disponível em: <doi:10.1046/j.1365-2486.2003.00605.x>. Acesso em: dez. 2016.
- LOPES, A. S. **Solos sob cerrado: manejo da fertilidade para a produção agropecuária**. 2ª edição, São Paulo: ANDA, 1994. 62p. (Boletim técnico, 5).
- LOPES, A. S.; WIETHÖLTER, S.; GUILHERME, L. R. G.; SILVA, C. A. **Sistema Plantio Direto**: Bases para o Manejo da Fertilidade do Solo. São Paulo: ANDA, 2004. 110p.
- LOPES, A. A. C et al. Interpretation of Microbial Soil Indicators as a Function of Crop Yield and Organic Carbon. **Soil Biology and Biochemistry**. v. 77, p. 461-472, 2013. Disponível em <doi:10.2136/sssaj2012.0191>. Acesso em: abr. 2017.

MANZATTO, C. V.; FREITAS JUNIOR, E.; PERES, J. R. R. (ed.). **Uso agrícola dos solos brasileiros**. Embrapa Solos, Rio de Janeiro. 2002. 174 p. ISBN 85-85864-10-9. Disponível em: <[http://www.labogef.iesa.ufg.br/labogef/arquivos/downloads/uso\\_agricola\\_solos\\_brasil\\_eiros\\_89436.pdf](http://www.labogef.iesa.ufg.br/labogef/arquivos/downloads/uso_agricola_solos_brasil_eiros_89436.pdf)>. Acesso em: Jun. 2017.

MARGALEF et al. Global patterns of phosphatase activity in natural soils. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1337, 2017. Disponível em <[doi:10.1038/s41598-017-01418-8](https://doi.org/10.1038/s41598-017-01418-8)>. Acesso em: maio 2017.

MARINARI, S.; MASCIANDARO, G.; MCCANTI, B.; GREGO, S. Kinetics of acid phosphatase in calcium chloride extractable soil organic matter. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 40, p. 2076-2078, 2008. Disponível em: <[doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.027](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.027)>. Acesso em: jan. 2017.

MATSUOKA, M.; MENDES, I. C.; LOUREIRO, M. F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste/MT. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 425-433, 2003.

MAZZETTO SILVA, C. E. Democracia e sustentabilidade na agricultura: subsídios para construção de um novo modelo de desenvolvimento rural. Cadernos de Debate, Rio de Janeiro: **Projeto Brasil Sustentável e Democrático**, FASE, n. 4, 116 p. 2001.

MELILLO, J. M.; STEUDLER, P. A.; ABER, J. D. Soil warming and carbon-cycle feedbacks to the climate system. **Science**, New York, v. 298, p. 2173-2176, 2002. Disponível em: <[doi:10.1126/science.1074153](https://doi.org/10.1126/science.1074153)>. Acesso em: dez. 2016.

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

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, Oxford, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000. Disponível em: <[doi:10.1038/35002501](https://doi.org/10.1038/35002501)>. Acesso em: jan. 2017.

NAHAS, E. **Micro-organismo do solo produtores de fosfatase em diferentes sistemas agrícolas**. *Bragantia*, Campinas, v. 61, n. 3, p. 267-275, 2002. Disponível em: <[doi.org/10.1590/S0006-87052002000300008](https://doi.org/10.1590/S0006-87052002000300008)>. Acesso em: abr.2017.

NASTO et al. Nutrient acquisition, soil phosphorus partitioning and competition among trees in a lowland tropical rain forest. **New Phytologist**, London, v. 214, p. 1506-1517, 2017. Disponível em: <[doi:10.1111/nph.14494](https://doi.org/10.1111/nph.14494)>. Acesso em: mar. 2017.

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

PAUL, E. A. **Soil Microbiology, ecology and biochemistry**, 3. ed. Academic Press: New York, 2007.

- PAULSON, K.N.; KURTZ, L.T. Michaelis constant of soil urease. *Proc. Soil Science Society of America Journal*, Madison, WI, v. 34, p. 70-72, 1970.
- PIRES, M.O. Cerrado: sociedade e biodiversidade. In: **Seminário Plantas Medicinais Do Cerrado**, Mineiros-GO. Anais... Mineiros-GO, p. 155-173. 1999.
- POWLSON, D.S.; BROOKES, P.C.; CHRISTENSEN, B.T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil biology and biochemistry*, Oxford, v. 19, p. 159-164, 1987. Disponível em: <doi.org/10.1016/0038-0717(87)90076-9>. Acesso: fev. 2017.
- POWLSON, D. S.; JENKINSON, D. S. A comparison of the organic matter, biomass, adenosine triphosphate and mineralizable nitrogen contents of ploughed and direct-drilled soil. *Journal of Agricultural Science*, New York, n. 97, p. 713-721, 1981. Disponível em: <doi:10.1017/S0021859600037084>. Acesso em: maio 2017.
- PRADO et al. Visão geral atual e aplicações potenciais da abordagem dos serviços do ecossistema do solo no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 9, p. 1021-1038, 2016. Disponível em: <doi:10.1590/S0100-204X2016000900002>. Acesso em: abr. 2017.
- RAMPELOTTO, P.; SIQUEIRA FERREIRA, A. O.; BARBOZA, A.; ROESCH, L. Changes in Diversity, Abundance, and Structure of Soil Bacterial Communities in Brazilian Savanna Under Different Land Use Systems. *Microbial Ecology*, New York, p.1-15. 2013. Disponível em: <doi:10.1007/s00248-013-0235-y>. Acesso em: fev.2017.
- RASHID, A.; AWAN, Z. I.; RYAN, J. Diagnosing phosphorus deficiency in spring wheat by plant analysis: proposed critical concentration ranges. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, Nova York, v. 36, n. 4-6, p. 609-622, 2005. Disponível em: <dx.doi.org/10.1081/CSS-200043299>. Acesso em: jan.2017.
- RATLIFF, T. J.; FISK, M. C. Phosphatase activity is related no N availability but not P availability across hardwood forests in the northeastern United States. *Soil Biology and Biochemistry*, Elmsford, v. 94, p. 61-69, 2016. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.11.009>. Acesso em: jan. 2017.
- RIBEIRO, R. R. **Programas de desenvolvimento do Cerrado**: balanço e perspectivas. Belo Horizonte: CPDA. 2000.
- ROBINSON, D. A.; HOCKLEY, N.; DOMINATI, E.; LEBRON, I.; SCOW, K.M.; REYNOLDS, B.; EMMETT, B. A.; KEITH, A. M.; JONGE, L. W.; SCHJØNNING, P.; MOLDRUP, P.; JONES, S. B.; TULLER, M. Natural capital, ecosystem services, and soil change: why soil science must embrace an ecosystems approach. *Vadose Zone Journal*, v.11, 2012. Disponível: <doi:10.2136/vzj2011.0051>. Acesso em: fev. 2017.
- ROSA, R. **Introdução ao sensoriamento remoto**. Uberlândia: Editora da Universidade Federal de Uberlândia EDUFU, 1990.

RUTGERS, M.; WIJNEN, H. J. VAN; SCHOUTEN, A. J.; MULDER, C.; KUITEN, A. M. P.; BRUSSAARD, L.; BREURE, A. M. A method to assess ecosystem services developed from soil attributes with stakeholders and data of four arable farms. **Science of the Total Environment**, v. 415, p. 39-48, 2012. Disponível em: <doi:10.1016/j.scitotenv.2011.04.041>. Acesso em: mar. 2017.

SÁ, J. C. M. **Manejo de fertilidade do solo em semeadura direta**. Carambeí: Fundação ABC, 1993. 96 p.

SHAVER, G.R.; CANADELL, J.; CHAPIN, F.S. Global warming and terrestrial ecosystems: a conceptual framework for analysis. **BioScience**, Oxford, v. 50, p. 871-882, 2000. Disponível em: <doi.org/10.1641/0006-3568(2000)050[0871:GWATEA]2.0.CO;2>. Acesso em: mar. 2017.

SILVA, E. F. **Frações da matéria orgânica e decomposição de resíduos da colheita de eucalipto em solos de tabuleiros costeiros da Bahia**. 2008. 110 f. Tese (Doutorado, Programa de Pós Graduação em solos e nutrição de plantas) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008. Disponível em: <<http://alexandria.cpd.ufv.br:8000/teses/solos%20e%20nutricao%20de%20plantas/2008/209592f.pdf>>. Acesso em: jan. 2017.

SINSABAUGH, R. et al. Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity. **Ecology**, Tempe, Arizona, v. 74, p. 1586-1593, 1993. Disponível em: <doi:10.2307/1940086>. Acesso em: Dez. 2016.

SMITH, S. E. et al. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 156, p. 1050-1057, 2011. Disponível em: <doi.org/10.1104/pp.111.174581>. Acesso em: fev. 2017.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E.; REIN, T. A. Adubação com fósforo. In: Sousa, D.M.G.; Lobato, E. Cerrado, correção do solo e adubação. 2 ed. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 147-168, 2004.

STEVENSON, F. J. **Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions**, 2 ed. 1994.

STONE, M. M.; PLANTE, A. F. Changes in phosphatase kinetics with soil depth across a variable tropical landscape. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 71, p. 61-67, 2014. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.01.006>. Acesso: maio 2017.

STOTZKY, G. Microbial respiration. In: Black, C.A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: **American Society of Agronomy**, New York, v. 2, p. 1150-1570, 1965.

SYLVIA, D.; FUHRMANN, J.; HARTEL, P.; ZUBERER, D. **Principles and applications of soil microbiology**, New Jersey, Prentice Hall. 1999.

- TABATABAI, M.A.; BREMNER, J.M. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 1, p. 301-307, 1969. Disponível em: <doi:10.1016/0038-0717(69)90012-1>. Acesso em: maio 2017.
- TABATABAI, M. A. Soil enzymes. *Methods Soil Anal. Part 2- Microbiological Biochemistry*. Prop. 775-833, 1994.
- TATE, K. R. The biological transformation of P in soil. **Plant Soil**, v. 76, p. 245, 1984.
- TATE, R. L. **Soil microbiology**. 2nd ed. New York: Wiley. 2000.
- TRASAR-CÉPEDA, C.; LEIRÓS, M. C.; GIL-SOTRES, F.; SEOANE, S. Towards a biochemical quality index for soils: An expression relating several biological and biochemical properties. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, n. 26, p. 100-106, 1998. Disponível: <link.springer.com/article/10.1007/s003740050350>. Acesso: Fev. 2017.
- TRASAR-CÉPEDA, C.; LEIRÓS, M. C.; GIL-SOTRES, F. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. **Soil Biology and Biochemistry**, Emsford, v. 40, n. 9, p. 2146-2155, 2008. Disponível em: <doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.03.015>. Acesso em: abr. 2017.
- TRASAR-CÉPEDA, C.; LEIRÓS, M.; SEOANE, S.; GIL-SOTRES, F. Biochemical properties of soils under crop rotation. **Applied Soil Ecology**, Emsford, v. 39, p. 133-143, 2008b. Disponível em:<doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.12.003>. Acesso: Fev. 2017.
- TSCHERKO, D. et al. Functional diversity of the soil microflora in primary succession across two glacier forelands in the Central Alps. **European Journal of Soil Science**, v. 54, p. 685-696, 2003. Disponível em: <doi:10.1046/j.1351-0754.2003.0570.x>. 2017.
- TURNER, B. L.; ENGELBRECHT, B. M. J. Soil organic phosphorus in lowland tropical rain forests. **Biogeochemistry**, The Hague Kluwer Academic, v. 103, p. 297-315, 2011. Disponível em: <link.springer.com/article/10.1007%2Fs10533-010-9466-x>. Acesso em: abr. 2017.
- VAN MEETEREN, M. J. M.; TIETEMA, A.; VAN LOON, E. E.; VERSTRATEN, J. M. Microbial dynamics and litter decomposition under a change climate in a Dutch Heathland. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 38, p. 119-127, 2008.
- VANCE, E. D.; BROOKS, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 19, p. 703-707, 1987. Disponível em: <doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6>. Acesso em: fev. 2017.
- VELASQUEZ, E.; LAVELLE, P.; ANDRADE, M. GISQ, a multifunctional indicator of soil quality. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.39, p. 3066-3080, 2007. Disponível em: <doi:10.1016/j. soilbio.2007.06.013>. Acesso em: fev. 2017.

VINHAL-FREITAS et al. Soil textural class plays a major role in evaluating the effects of land use on soil quality indicators. **Ecological Indicators**, v. 74. p. 182-190, 2017. Disponível em: <[doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.11.020](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.11.020)>. Acesso em: maio 2017.

VINHAL-FREITAS, I. C.; FERREIRA, A. S.; CORRÊA, G. F.; WENDLING, B. Influence of phosphorus and carbon on soil microbial activity in a savannah agroecosystem of Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 43, p. 1291-1302. 2012. Disponível em: <[doi:10.1080/00103624.2012.666304](https://doi.org/10.1080/00103624.2012.666304)>. Acesso em: jan. 2017.

VINHAL-FREITAS, I. C.; FERREIRA, A. S.; CORRÊA, G. F.; WENDLING, B. Land use impact on microbial and biochemical indicators in agroecosystems of the Brazilian Cerrado. **Vadose Zone Journal**, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2013. Disponível em: <[doi:10.2136/vzj2012.0027](https://doi.org/10.2136/vzj2012.0027)>. Acesso em: mar. 2017.

VON MERSE, W.; SCHINNER, F. An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soil with iodinitrotetrazolium choride. **Biology and Fertility of soils**, Innsbruck, Áustria, v. 11, p. 216-220, 1991. Disponível em: <[link.springer.com/content/pdf/10.1007%2FBF00335770.pdf](http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2FBF00335770.pdf)>. Acesso em: fev. 2017.

WALDROP, M.; BALSER, T.; FIRESTONE, M. Linking microbial community composition to function in a tropical soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 32, p. 1837-1846, 2000. Disponível em: <[doi:10.1016/S0038-0717\(00\)00157-7](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00157-7)>. Acesso em: maio 2017.

WAN, S.; LUO, Y.; WALLACE, L. L. Change in microclimate induced by experimental warming and clipping in tallgrass prairie. **Global Change Biology**, Norman, OK, v. 8, p. 754-768, 2002. Disponível em: <[onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2486.2002.00510.x/epdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2486.2002.00510.x/epdf)>. Ac: mar. 2017.

WANG, G.; POST, W. M.; MAYES, M. A.; FRERICHS, J. T.; SINDHU, J. Parameter estimation for models of ligninolytic and cellulolytic enzyme kinetics. **Soil Biology and Biochemistry**, Knoxville, TN, v. 48, p. 28-38, 2012. Disponível em: <[doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.01.011](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.01.011)>. Acesso em: fev. 2017.

WESTHEIMER, F. H. Why nature chose phosphates. **Science**, v. 235, p. 1173, 1987.

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

YANG, X.; POST, W. M. Phosphorus transformations as a function of pedogenesis: A synthesis of soil phosphorus data using Hedley fractionation method. **Biogeosciences**, v. 8, p. 2907-2916, 2011. Disponível em: <[doi:10.5194/bg-8-2907-2011](https://doi.org/10.5194/bg-8-2907-2011)>. Acesso em: abr. 2017.

YEAR BOOK. Emerging issues in our global environment. Nairobi: **United Nations Environment Programme**, 2012. 68p.