

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**ATIVIDADES ENZIMÁTICAS COMO INDICADORES BIOLÓGICOS DA
QUALIDADE DE SOLOS AGRÍCOLAS DO RIO GRANDE DO SUL**

ANDRESSA DE OLIVEIRA SILVEIRA
(Engenheira Agrônoma, UFPEL)

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção
do Grau de Mestre em Ciência do Solo

Porto Alegre (RS), Brasil
Março/2007

Dedicada a meus pais Arlete e Carlos,
responsáveis pela pessoa que sou hoje,
e ao meu eterno companheiro Anô.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-graduação em Ciência do solo pela oportunidade da realização do curso.

Ao CNPq pela concessão de bolsas de estudo e a FAPERGS pelo financiamento do projeto.

Ao professor e orientador Pedro Alberto Selbach por sua orientação, sempre gentil e prestativo.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo que de alguma maneira contribuíram para a minha formação.

Ao professor da UERGS José Antônio Schmitz por me possibilitar a realização deste projeto.

As instituições de pesquisa e produtores rurais que me permitiram fazer as coletas de solo para a realização deste trabalho.

Ao professor Enilson Luiz Saccol de Sá pelos conselhos e pelas ótimas conversas no Laboratório de Microbiologia.

Aos funcionários Jader Ribeiro Amaro, Adão Luis Ramos da Silva, Luis Antônio da Silveira e Márcio Silveira por seu auxílio e pela colaboração nas análises ao longo do trabalho.

Aos pesquisadores da FEPAGRO Bruno Brito e Luciano Kaiser pelo auxílio na realização das análises e discussão dos dados.

Às minhas queridas amigas Márcia, sempre disposta a me ajudar, e Nilvânia, que sempre apareceu nos momentos mais difíceis.

As minhas colegas, amigas e vizinhas Brenda e Andréa que sempre me ajudaram, não importando a hora.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Microbiologia do Solo pelo pelos ótimos momentos de descontração que passamos juntos.

À família Furtado, que foi minha referencia de lar quando cheguei a Porto Alegre, e sempre me acolheu para um carreteiro quando a saudade de casa apertava.

Aos meus pais, Arlete e Carlos, por sempre acreditar e apoiar minhas decisões, e aos meus irmãos Larissa e Cícero pela paciência.

Ao meu marido Anô pela paciência, apoio, companheirismo e amor.

ATIVIDADES ENZIMÁTICAS COMO INDICADORES BIOLÓGICOS DA QUALIDADE DE SOLOS AGRÍCOLAS DO RIO GRANDE DO SUL. ¹

Autor: Andressa de Oliveira Silveira
Orientador: Prof. Dr. Pedro Alberto Selbach

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar as atividades enzimáticas em solos agrícolas representativos do Rio Grande do Sul e relacioná-las com atributos químicos, físicos e químicos de solos. O estudo foi realizado em onze localidades do Estado, com diferentes características climáticas e topográficas, em solos com variação nas suas características químicas e físicas. Em cada local foram avaliadas áreas sob vegetação nativa (mata e campo), utilizadas como referência, e áreas cultivadas sob sistema de manejo conservacionista e convencional. Foram realizadas duas amostragens de solo: entre novembro e dezembro de 2005 e entre maio e junho de 2006. Foram determinadas a atividade das enzimas β -glucosidase, fosfatase ácida, urease e hidrólise de FDA, o carbono da biomassa microbiana e a respiração microbiana nas amostras de solo, coletadas na profundidade de 0-20cm. De maneira geral, os solos com maiores teores de carbono orgânico apresentaram os maiores valores para as atividades de β -glucosidase, fosfatase ácida e urease, com alta correlação positiva. Entretanto, esta relação com o teor de carbono orgânico não foi observada com carbono da biomassa, nem com a respiração microbiana. Os solos sob vegetação nativa em geral apresentaram maior atividade enzimática, seguidos daqueles sob sistemas mais conservacionistas, como o plantio direto, e os menores valores geralmente ocorreram em solos sob sistema de plantio convencional. Os valores de atividades enzimáticas tenderam a ser maiores nos períodos mais quentes. A β -glucosidase, urease e fosfatase ácida mostraram-se sensíveis em detectar mudanças, não só entre os sistemas de manejo de solo, mas também entre os locais avaliados. Entretanto, a hidrólise de FDA não mostrou-se adequado para indicar a qualidade do solo por apresentar valores similares nos diferentes locais e sistemas de manejo.

¹. Dissertação de mestrado em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Trabalho realizado com apoio financeiro do CNPq e FAPERGS.

ENZYME ACTIVITIES AS A QUALITY BIOLOGIC INDICATOR OF AGRICULTURAL SOIL IN THE STATE OF RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL.¹

Author: Andressa de Oliveira Silveira

Adviser: Prof. Dr. Pedro Alberto Selbach

ABSTRACT

The study aimed to evaluate enzyme activity and its relationship with another attributes of representative agricultural soils from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. It was carried out in eleven areas of the state showing different climatic and topographic characteristics, as well a wide range of chemical and physical soil characteristics. Soil samples were collected in areas under native vegetation, used as reference, and under cultivation, conservative system as no tillage and conventional tillage. Sampling procedures were realized in two different periods: the first between November and December of 2005, and then, between May and June of 2006. The microbial biomass carbon (MBC), microbial respiration and the enzymes activities of β -glucosidase, acid phosphatase, urease and fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis were determined in the soil samples. In a general way, the organic carbon content was significantly correlated with enzyme activity values. The biomass carbon and the microbial respiration were not significantly correlated with the organic carbon content. The enzyme activity was generally higher in the soils under native vegetation, followed by the no tillage systems, and the lowest activity was observed in conventional tillage system. The enzymatic activity values were higher during the warmer months, November and December. The β -glucosidase, urease and acid phosphatase were sensible to detect changes in soil properties caused by conservative practices, and also between the different areas. On the other hand, the fluorescein diacetate (FDA) was not a good indicator for the soil quality.

¹ Master Dissertation in Soil Science. Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2.1. Indicadores da qualidade do solo.....	03
2.2. Atributos biológicos como indicadores da qualidade do solo.....	05
2.2.1. Biomassa Microbiana do Solo.....	05
2.2.2. Atividade biológica do solo.....	07
2.2.2.1. Respiração microbiana do solo.....	07
2.2.2.2. Atividade das enzimas do solo.....	09
2.3. Fatores que afetam a atividade enzimática.....	12
2.4. Uso da atividade enzimática como indicador de qualidade biológica do solo no Brasil.....	14
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1. Caracterização das áreas de estudo.....	18
4.1.1. Locais das coletas de solo.....	19
4.2. Coleta e preparo das amostras.....	23
4.3. Avaliação da Atividade Enzimática.....	24
4.3.1. β -glucosidase.....	25
4.3.2. Fosfatase ácida.....	25
4.3.3. Urease.....	26
4.3.4. Hidrólise do diacetato de fluoresceína.....	27
4.4. Análises complementares.....	27
4.4.1. Atributos biológicos.....	27
4.4.1.1. Carbono da biomassa microbiana.....	27
4.4.1.2. Respiração microbiana.....	29
4.4.2. Atributos químicos e físicos.....	29
4.5. Análises estatísticas dos resultados.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1. Carbono da biomassa microbiana.....	31
5.2. Respiração microbiana.....	35

	Página
5.3. Atividade enzimática.	38
5.3.1. Atividade da β -glucosidase	38
5.3.2. Atividade da fosfatase ácida.	44
5.3.3. Atividade da urease.	48
5.3.4. Hidrólise do diacetato de fluoresceína.	51
5.3. Atividade enzimática como indicador de qualidade biológica do solo.	54
6. CONCLUSÕES.	56
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	57
8. APÊNDICES.	66

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
01. Mapa das regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul com a indicação dos locais onde foram realizadas as coletas de solo. (1=Morro Alto, 2=Eldorado do Sul, 3=Encruzilhada do Sul, 4=São Gabriel, 5=Maquiné, 6=São Borja, 7=Bento Gonçalves, 8=Ibirubá, 9=Cruz Alta, 10=Santo Ângelo, 11=Vacaria)	18
02. Carbono da biomassa microbiana em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel;M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria)	31
03. Carbono da biomassa microbiana em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel;M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria)	32
04. Respiração microbiana acumulada em 20 dias em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel;M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). .	36

05. Respiração microbiana acumulada em 20 dias em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria) 37

06. Valores de atividade da β -glucosidase em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria) 39
07. Valores de atividade da β -glucosidase em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria) 40
08. Valores de atividade da fosfatase ácida em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria) 44
09. Valores de atividade da fosfatase ácida em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria) 45

10. Valores de atividade da urease em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria) 48
11. Valores de atividade da urease em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria) 49
12. Valores de hidrólise do diacetato de fluoresceína em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria) 52
13. Valores de hidrólise do diacetato de fluoresceína em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria) 53

RELAÇÃO DE APÊNDICES

		<i>Página</i>
01.	Coordenadas de referência das onze localidades onde foram realizadas as coletas de solo para avaliação da atividade enzimática.	67
02.	Temperaturas médias (°C) no estado do Rio Grande do Sul nos meses de maio e junho.	68
03.	Temperaturas médias (°C) no estado do Rio Grande do Sul nos meses de novembro e dezembro.	69
04.	Precipitação acumulada (mm) no estado do Rio Grande do Sul nos meses de maio e junho.	70
05.	Precipitação média acumulada (mm) no estado do Rio Grande do Sul nos meses de novembro e dezembro.	71
06.	Características químicas e teor de argila de solos coletados na profundidade de 0-20 cm e sob diferentes situações de uso em Morro Alto, Eldorado do Sul, Encruzilhada do Sul e São Gabriel.	72
07.	Características químicas e teor de argila de solos coletados na profundidade de 0-20 cm e sob diferentes situações de uso em Maquiné, São Borja, Bento Gonçalves e Ibirubá.	73
08.	Características químicas e teor de argila de solos coletados na profundidade de 0-20 cm e sob diferentes situações de uso em Cruz Alta, Santo Ângelo e Vacaria.	74
09.	Umidade gravimétrica de solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, cultivados sob diferentes sistemas de manejo e sob vegetação nativa, coletados entre novembro e dezembro de 2005, na profundidade de 0-20 cm.	75
10.	Umidade gravimétrica de solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, cultivados sob diferentes sistemas de manejo e sob vegetação nativa, coletados entre maio e junho de 2006, na profundidade de 0-20cm.	75

	<i>Página</i>
11. Carbono da biomassa microbiana em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições)	76
12. Respiração microbiana em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições)	77
13. Atividade da enzima β -glucosidase em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições)	78
14. Atividade da enzima fosfatase ácida em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições)	79
15. Atividade da enzima urease em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições)	80
16. Hidrólise de FDA em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições)	81

1. INTRODUÇÃO

O solo é um recurso natural vital para a manutenção da vida sobre a terra, incluindo a do ser humano. O crescimento de áreas para agricultura devido ao aumento da população mundial, e o uso descuidado e intensivo dos solos têm levado a degradação acelerada dos mesmos, comprometendo a sustentabilidade dos sistemas agrícolas e do ambiente. Em casos extremos, tem levado à inviabilidade econômica das atividades e forçado assim a abertura de novas fronteiras agrícolas. No entanto, a quantidade de terras que podem ser utilizadas para agricultura é limitada, de forma que a expansão de fronteiras não resolve o problema, apenas adia.

Nos últimos tempos, o questionamento da sustentabilidade do modelo de desenvolvimento atual tem despertado interesse da comunidade científica em investir esforços no sentido de recuperar e conservar a qualidade dos solos. Os grandes desafios da agricultura moderna estão relacionados com a produção vegetal para atender uma demanda de alimentos cada vez maior, e paralelamente a necessidade da preservação dos recursos naturais como água e o solo.

Neste sentido, tem crescido a preocupação quanto à busca de formas objetivas de avaliação da qualidade do solo. No entanto, de maneira geral, esta continua sendo mensurada apenas através de indicadores químicos e físicos, uma vez que a porção biológica do solo costuma ser de mais difícil quantificação. Entretanto, quando se trata da avaliação da qualidade e da sustentabilidade de solos agrícolas, é fundamental que esta seja determinada também, e principalmente, por indicadores biológicos, especialmente por aqueles relacionados ao funcionamento da ciclagem de nutrientes.

Apesar da importância dos microrganismos em diversos processos que ocorrem no solo, a sua utilização como indicador de qualidade biológica do solo ainda é limitada devido à maioria dos métodos serem mais trabalhosos e por demandar mais tempo para obtenção dos resultados. Muitas são as metodologias que podem ser empregadas para avaliar a microbiota do solo, seja através da quantificação da sua população, como a determinação do carbono da biomassa microbiana, ou através da medida da sua atividade, como a respiração basal e atividade de diversas enzimas de solo, sendo que estas últimas podem avaliar a dinâmica da ciclagem de nutrientes no solo.

As avaliações de atividades enzimáticas do solo têm sido amplamente difundidas pela pesquisa agrônômica mundial devido ao seu potencial como indicadores de qualidade. Isso porque, além de sua sensibilidade para detectar alterações na qualidade do solo mais precocemente que os indicadores físicos e químicos, são métodos simples e rápidos, além de se correlacionarem com outras propriedades do solo.

No entanto, a pesquisa agrônômica brasileira nesta área ainda não é suficiente. No país, e mais especificamente no Estado do Rio Grande do Sul, ainda não há dados suficientes sobre a atividade enzimática nos vários tipos de solo submetidos a diferentes formas de manejo. Esta falta de informação sobre a atividade enzimática do solo não permite a recomendação do uso desta metodologia com vistas à avaliação da qualidade dos solos.

O presente trabalho constitui um estudo pioneiro sobre as propriedades microbiológicas, e principalmente as atividades enzimáticas, de diferentes solos do Rio Grande do Sul, sob cultivo e sob vegetação nativa, procurando representar as principais áreas agrícolas e principais sistemas de manejo utilizados no Estado.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Indicadores da qualidade do solo

O solo é um corpo natural, dinâmico e vivo que desempenha diversas funções-chave nos ecossistemas terrestres (Doran & Parkin, 1994) e é, portanto, um dos componentes essenciais para a vida e a saúde da humanidade e de toda a vida no planeta. Estes mesmos autores definem “qualidade do solo” como a capacidade do mesmo de funcionar dentro de um ecossistema de maneira a sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade ambiental e promover a saúde vegetal e animal.

O constante avanço da compreensão do funcionamento do sistema solo tem permitido ampliar os conhecimentos sobre os métodos para sua recuperação e conservação e sobre as metodologias mais adequadas para avaliar sua saúde e qualidade.

Embora o conceito de qualidade preconize o entendimento do solo como um todo, e enfatize a necessidade de avaliações químicas, físicas e biológicas para que sejam possíveis inferências sobre sua sustentabilidade, a maioria das avaliações trata apenas de propriedades químicas, como conteúdo total de carbono orgânico e suas frações, conteúdo de nitrogênio, ou então de atributos físicos, como agregação (Vezzani, 2001) e parâmetros relacionados à dinâmica da água no solo (Dexter, 2004). Estes autores consideram a importância do conteúdo de carbono orgânico no solo, mas poucas avaliações de qualidade do solo baseiam-se ou agregam análises microbiológicas do solo, embora a microbiota seja fundamental na ciclagem dos nutrientes no solo (Kennedy & Papendick, 1995).

A utilização desses atributos isoladamente para avaliar a qualidade do solo traz alguns problemas. Por exemplo, a análise química do solo, para avaliar sua fertilidade, embora muito útil para estimar o potencial produtivo do solo, apenas informa sobre a capacidade do solo em manter a produtividade vegetal. E ainda, alterações nos atributos físicos ou a perda da matéria orgânica do solo podem levar anos para ocorrer de forma significativa, o que pode revelar tardiamente um estado de degradação do solo (Carter, 1986).

A seleção de indicadores que possibilitem a quantificação da qualidade do solo é de fundamental importância. Para o correto funcionamento do solo, um número imenso de propriedades físicas, químicas e biológicas está envolvido. Entretanto, devido à impossibilidade de considerar todas essas propriedades, é necessário fazer uma seleção. Essa seleção, segundo Elliott (1994), deve satisfazer uma série de requisitos:

- a) Sensibilidade para a presença do maior número possível de agentes degradantes.
- b) Consistência na direção de mudanças decorrentes de um determinado contaminante.
- c) Habilidade para expressar os diferentes níveis de degradação.

Com o mesmo objetivo, Stenberg (1999) sintetizou em quatro critérios a escolha de indicadores para monitorar a qualidade do solo:

- a) Devem integrar propriedades químicas, físicas e biológicas e representar funções no solo que são difíceis de medir diretamente.
- b) A relevância ecológica e a variação natural dos indicadores devem ser bem conhecidas.
- c) Devem possibilitar sua medição acurada e precisa por meio de ampla variação de tipos e condições de solo.

- d) Devem ser de determinação simples e de baixo custo, para permitir que grande número de análises possa ser realizado.

Segundo Santana & Bahia Filho (1999), é necessário estabelecer limites de sustentabilidade para cada indicador de qualidade de solo, para que seja possível separar a condição sustentável da não sustentável. Os autores sugerem um conjunto mínimo de indicadores e seus limites de sustentabilidade, para ser usado como guia na avaliação da qualidade de solos da região do Cerrado, que leva em conta as médias de solos representativos.

No entanto, vários outros autores têm preferido adotar como critério de referência as condições prevalentes em solos que suportam uma vegetação nativa e que tenham sofrido mínimos distúrbios antropogênicos (Dick, 1994; Doran et al., 1994; Trasar-Cepeda et al., 1998; Leirós et al., 2000; Pascual et al., 2000). Segundo Doran et al. (1994), o uso deste critério garante larga aplicabilidade das avaliações de qualidade do solo com respeito à sustentabilidade, pois as propriedades físicas, químicas e biológicas que suportam uma vegetação nativa evoluíram para um estado de equilíbrio que assegura uma viabilidade de longo prazo do ecossistema circunvizinho.

Segundo Kennedy & Papendick (1995), as avaliações dos atributos biológicos tais como: a atividade das enzimas do solo, a taxa de respiração, a diversidade e a biomassa microbiana, se ajustam à maioria dos critérios para seleção de indicadores de qualidade do solo. Isto se deve, principalmente, a sua capacidade de responder rapidamente a mudanças derivadas de alterações no manejo, e o fato de que a atividade microbiana do solo reflete a influência conjunta de todos os fatores que regulam a degradação da matéria orgânica e as transformações dos nutrientes.

2.2. Atributos biológicos como indicadores da qualidade do solo

2.2.1. Biomassa Microbiana do Solo

A biomassa microbiana (BM) do solo é definida como a parte viva da matéria orgânica, composta por todos os organismos vivos com volume menor que $5 \times 10^3 \mu\text{m}^3$, e é representada por fungos, bactérias, actinomicetos,

leveduras e representantes da microfauna como os protozoários (Moreira & Siqueira, 2006). A biomassa microbiana representa de 2 a 5% do carbono orgânico do solo (Jenkinson & Ladd, 1981), de 1 a 5 % do N total do solo (Smith & Paul, 1990) e é a principal fonte de enzimas do solo (Moreira & Siqueira, 2006).

Muitas são as metodologias empregadas para determinar a biomassa microbiana. Mas os principais métodos utilizados são o da fumigação-incubação (Jenkinson et al, 1976) e fumigação-extração (Vance et al, 1987). Os dois métodos baseiam-se na fumigação do solo com clorofórmio para matar toda população de microrganismos, sem afetar, contudo o conteúdo dessa matéria orgânica morta. A diferença é que, no método da fumigação-incubação, o carbono é determinado na forma de CO₂ liberado pelo solo durante um período de incubação, sendo resultado da respiração decorrente do crescimento de organismos, usando como substrato os organismos mortos pela fumigação. Enquanto que no, método de incubação-extração, o carbono é determinado por extração com K₂SO₄, oxidação e digestão química, seguidas de titulação.

Segundo Smith & Paul (1990), a biomassa é um importante reservatório de nutrientes no solo que se recicla rapidamente, tornando-os disponíveis para as plantas. Ela é composta por muitos elementos essenciais ao desenvolvimento desses seres vivos, regulando o fornecimento e a disponibilidade, por exemplo, de N, P e K no solo. Em determinadas situações, como em regiões de clima tropical, a biomassa assume um papel muito importante como fonte de nutrientes facilmente disponíveis para os microrganismos do solo e plantas. Isso porque sua quantidade corresponde a aproximadamente 4% da matéria orgânica total do solo (Feigl et al., 1995), ao contrário dos valores encontrados em solos de clima temperado, que ficam ao redor de 2%.

Os valores obtidos para biomassa microbiana variam muito com o tipo de solo, vegetação e clima, e a sua quantidade está relacionada com a quantidade e qualidade do carbono que o solo recebe. Van de Werf &

Verstraete (1987), trabalhando com diferentes tipos de solo na Alemanha, encontraram valores de BM variando de 90 a 2300 mg C Kg⁻¹ de solo.

No Brasil, vários autores utilizam a avaliação da biomassa microbiana como indicativo de qualidade de solo. Mendes et al. (2003), trabalhando em solos do Cerrado brasileiro, observaram que o estabelecimento de sistemas de cultivo gerou quebra de macroagregados do solo e diminuição no carbono da biomassa microbiana quando comparados aos valores da vegetação nativa. Matsuoka et al (2003), também trabalhando com solos do Cerrado brasileiro, concluíram que o carbono da biomassa microbiana, juntamente com outros indicadores biológicos, foi sensível para indicar alterações devido ao uso agrícola com diferentes sistemas de uso.

No Rio Grande do Sul, Vargas & Scholles (2000), trabalhando com um Argissolo Vermelho distrófico típico, na camada de 0-15cm, encontraram valores de BM variando de 105 a 303 mg C Kg⁻¹ de solo, em sistema de preparo de solo convencional e plantio direto respectivamente. Estes autores observaram ainda que o tipo de cobertura e o uso de rotação de culturas influenciaram nos valores de biomassa, sendo os maiores valores observados em sistemas com maior variedade de espécies.

Ainda que represente uma pequena parte do carbono orgânico do solo, a BM é um indicador sensível de mudanças nesse ecossistema, principalmente por causas antropogênicas. Por representar a parte viva do solo, é influenciada pela disponibilidade de carbono e nutrientes, umidade, aeração e pH do solo, e ainda pelos tipos de argila e minerais do solo. Mas, apesar de ser uma medida da população viva do solo, e conseqüentemente uma característica muito dinâmica do solo, é pouco informativa quando apresentada isoladamente (Moreira & Siqueira, 2006).

2.2.2. Atividade biológica do solo

2.2.2.1. Respiração microbiana do solo

A respiração microbiana é um dos mais antigos parâmetros para quantificar a atividade microbiana. Ela representa a oxidação da matéria

orgânica do solo por organismos aeróbios, ou seja, que utilizam O_2 como acceptor final de elétrons e liberam CO_2 (Anderson, 1982).

A respiração microbiana pode ser mensurada no campo, sob condições naturais, ou em laboratório. Nas condições de laboratório, a respiração tem sido usada em estudos sobre a influência de diversos atributos físicos do solo, como umidade, temperatura e aeração sobre a mineralização da matéria orgânica do solo (Moreira & Siqueira, 2006).

A determinação da respiração microbiana no laboratório pode ser feita através da medida do O_2 consumido ou do CO_2 liberado do solo. A mais utilizada é pela determinação do CO_2 liberado, podendo esta medida ser feita através de titulação (quando capturado por NaOH ou KOH), cromatografia gasosa, espectroscopia de infravermelho ou por ^{14}C . Pode-se medir a respiração basal das amostras (ação dos microrganismos sobre a matéria orgânica presente na amostra) ou com indução por substrato (com adição de uma fonte de carbono).

A respiração microbiana reflete a atividade dos microrganismos do solo que promovem a decomposição de resíduos orgânicos neste ambiente, sendo, portanto utilizada para indicar a qualidade do solo. No entanto, de acordo com Totola & Chaer (2002), a interpretação de seus valores deve ser realizada com cautela. Uma alta taxa de respiração pode ser uma característica desejável, considerando-se que ela é um sinal de rápida decomposição de resíduos orgânicos, tornando nutrientes disponíveis para as plantas. Entretanto, a decomposição da matéria orgânica estável é desfavorável para muitos processos químicos e físicos do solo, como a agregação, a capacidade de troca de cátions, e outros associados a estes, como a capacidade de retenção de água.

Um outro aspecto que deve ser considerado a respeito deste atributo é que altas taxas de respiração podem indicar tanto um distúrbio ecológico, como a adição de grande quantidade de matéria orgânica prontamente disponível, sendo sua relação com outros parâmetros microbiológicos mais adequadas para a interpretação de fenômenos que estejam ocorrendo na comunidade microbiana. (Pettermann et al., 2006).

2.2.2.2. Atividade das enzimas do solo

As enzimas têm participação essencial nos processos relacionados à qualidade do solo, pois é através delas que os microrganismos do solo degradam moléculas orgânicas complexas em moléculas simples que podem ser assimiladas. Além de permitir que os microrganismos tenham acesso a energia e nutrientes presentes em substratos complexos, as enzimas extracelulares são responsáveis pela decomposição e mineralização de nutrientes no solo, disponibilizando-os também para as plantas e promovendo assim a ciclagem de nutrientes no solo.

Como as enzimas estão presentes em baixas concentrações no solo, a quantificação destas é feita de maneira indireta, através da medida da sua atividade, e não pela sua quantidade. Geralmente, a atividade é medida através da quebra de um substrato específico para cada enzima a ser avaliada, em condições padronizadas de pH e temperatura (Tabatabai, 1994).

Conforme Dick & Tabatabai (1992), as análises de atividades enzimáticas podem ser utilizadas de forma prática em inúmeras situações envolvendo o ambiente solo-planta, incluindo aspectos relativos à fertilidade, remediação de solos contaminados e avaliações de impacto de manejos e da qualidade dos solos agrícolas.

De acordo com Dick et al. (1996), as avaliações de atividades enzimáticas do solo podem ser úteis para indicar em que medida este está desempenhando seu potencial de ciclagem de nutrientes, nitrificação, oxidação e outros processos vitais à sua saúde. Há ainda a vantagem de que os métodos empregados para medir a atividade das enzimas do solo são geralmente simples, rápidos, acurados e reproduzíveis (Tabatabai, 1982). Neste sentido, diversos trabalhos têm demonstrado a utilidade das avaliações de atividades enzimáticas dos solos na determinação de sua saúde e qualidade (Dick, 1994; Dick et al., 1996; Bergstrom et al., 1998; Bandick & Dick, 1999; Monreal & Bergstrom, 2000; Mendes & Vivaldi, 2001; Garcia et al., 2002; Schmitz, 2003; Matsuoka, 2006).

Schmitz (2003), trabalhando com atividades de urease, amidase, β -glucosidase, fosfatase ácida e aril-sulfatase em um Argissolo Vermelho distrófico típico, sob diferentes formas de manejos e campo nativo no Rio Grande do Sul, verificou altas correlações entre estas avaliações e outros indicadores de qualidade do solo (teores de carbono orgânico e nitrogênio total, peso de agregados > 2 mm, produtividade média de milho), indicando a adequação do uso das mesmas para fins de avaliação da qualidade biológica daquele solo. O autor obteve uma satisfatória discriminação entre as formas de manejo avaliadas com a análise conjunta dos resultados das atividades enzimáticas, recomendando o período mais quente do ano para a coleta de amostras, em função de uma maior amplitude de resposta destas atividades neste período e, conseqüente, maior diferenciação entre os sistemas de manejo avaliados.

As atividades enzimáticas também têm sido utilizadas como indicadores de qualidade em solos contaminados com metais pesados. Estudos demonstram que algumas enzimas são sensíveis ao aumento da concentração de alguns elementos químicos no solo. Em um trabalho realizado por Kandeler et al. (1999) foi observado que a atividade das enzimas urease, fosfatase ácida, arilsulfatase e desidrogenase diminuíram à medida que aumentaram as concentrações de zinco, cobre, níquel e cádmio no solo, enquanto que a atividade da β -glucosidase não sofreu praticamente nenhuma alteração, mesmo com altas concentrações desses elementos no solo. Já Matsuoka (2006), trabalhando em solos com altos teores de cobre, sob cultivo de videira na Serra Gaúcha, observou que houve redução na atividade da β -glucosidase e urease.

Em um estudo realizado em uma área de recuperação de mineração de bauxita, Carneiro (2000) observou que a atividade da urease e a hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) relacionaram-se com o índice de reabilitação dos solos das áreas mineradas. Já a atividade da fosfatase ácida não diferiu entre os solos no início da recuperação e/ou em estágios mais avançados. Esses dados alertam para que os pesquisadores escolham os indicadores que sejam sensíveis às alterações que os mesmos desejam estudar e avaliar.

A escolha das enzimas a serem analisadas para avaliar a qualidade do solo baseia-se na sua sensibilidade ao manejo do solo, na decomposição da matéria orgânica e na operacionalidade da análise. As enzimas mais comumente analisadas são as hidrolases ligadas aos ciclos dos principais elementos do solo como C, N, P e S.

As glucosidases podem ser encontradas em plantas, animais e microrganismos, catalisam reações de hidrólise de maltose e celobiose, cujos produtos são importantes fontes de energia para os microrganismos do solo (Tabatabai, 1994).

As ureases participam do ciclo do N, contribuindo para a liberação de N inorgânico. A urease catalisa a hidrólise da uréia a CO_2 e NH_3 , é amplamente distribuída na natureza e foi detectada em microrganismos, plantas e animais (Dick et al., 1996).

As fosfatases são fundamentais na mineralização do fósforo e, conseqüentemente, na ciclagem deste nutriente no ambiente. Elas estão amplamente distribuídas do solo e têm sido muito estudadas porque catalisam a hidrólise de fósforo orgânico a fósforo inorgânico, disponibilizando-o assim para as plantas. De acordo com seu pH ótimo de ação, podem ser classificadas como ácidas (pH 6,5) ou alcalinas (pH 11) (Tabatabai, 1994, Alef & Nannipieri, 1995).

Além das hidrolases, os microrganismos liberam para o solo lipases, proteases e esterases. Essas enzimas não são específicas e estão envolvidas na degradação de muitos tipos de resíduos orgânicos. O uso de éster de fluoresceína para avaliação da atividade de lipases, proteases e esterases foi primeiramente realizado por Kramer e Guilbault (1963). Swisher & Carroll (1980) demonstraram que a quantidade de fluoresceína produzida pela hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) era proporcional à população microbiana. Em 2001, Adam & Duncan desenvolveram uma metodologia que possibilitou a utilização da hidrólise de FDA como indicador da atividade total de microrganismos heterotróficos do solo.

2.2.2.3.Fatores que afetam a atividade enzimática

A atividade enzimática pode ser influenciada por propriedades do solo como umidade e conteúdo de carbono orgânico (Jordan et al., 1995; Bergstrom et al., 1998). Também pode ser influenciada pela dinâmica da água e distribuição da biomassa radicular no solo (Amador et al., 1997) e por práticas de manejo (Ekenler & Tabatabai, 2003; Schmitz, 2003; Matsuoka, 2006).

O cultivo do solo costuma reduzir suas atividades enzimáticas (Gupta & Germida, 1988), sendo que os solos manejados com cultivo reduzido ou plantio direto costumam apresentar atividades enzimáticas mais altas do que aqueles que sofreram mobilizações (Angers et al., 1993). Doran (1980) verificou que o cultivo convencional por longo período reduziu as atividades de fosfatase, desidrogenase, urease e protease. Da mesma forma, Garcia et al. (1997), em trabalho que avaliou mudanças ocorridas nas atividades enzimáticas em solos agrícolas após seu abandono, verificaram que as atividades de hidrolases, como proteases, ureases, β -glucosidases e fosfatases, recuperavam-se após a interrupção da atividade agrícola, o que aponta para uma influência negativa das práticas culturais, indicando que a atividade humana atual costuma não favorecer o estabelecimento adequado da ciclagem de nutrientes.

No Rio Grande do Sul, Conte et al. (2002), trabalhando com atividade de fosfatase ácida em um Latossolo Vermelho muito argiloso, verificaram teores que variaram de 534 a 656 μg de p -nitrofenol g^{-1} solo h^{-1} em solos sob cultivo, e de 1504 μg de p -nitrofenol g^{-1} solo h^{-1} em solo sob mata nativa. Matsuoka (2006), em estudos realizados da região da Serra Gaúcha em solos sob cultivo de videira, observou que o tipo de cobertura e o manejo do solo influenciaram nos valores de atividade enzimática, mas de maneira distinta em Cambissolo Háplico e Neossolo Litólico. No primeiro solo, a atividade da β -glucosidase variou de 61 a 210 μg de p -nitrofenol g^{-1} solo h^{-1} na área cultivada, e chegou a 253 μg de p -nitrofenol g^{-1} solo h^{-1} na mata nativa. Já no Neossolo os valores encontrados variaram de 50 a 160 μg de p -nitrofenol g^{-1} solo h^{-1} , chegando a 310 μg de p -nitrofenol g^{-1} solo h^{-1} na mata nativa.

É possível que nos sistemas produtivos onde a fertilidade do solo esteja fortemente ligada à ciclagem da matéria orgânica, possa haver uma relação estreita entre as atividades das enzimas e a fertilidade destes solos (Dick & Tabatabai, 1992). Segundo Dick et al. (1996), solos sob manejos que visam promover sua qualidade (plantio direto, adubação orgânica, rotação de culturas, etc.) devem apresentar maior atividade biológica, o que se reflete em uma produção superior de enzimas e um maior potencial para estabilizá-las e protegê-las, através de sua complexação na matriz do solo. Trabalhando com solos sob cultivo de café, em Minas Gerais, Paula et al. (2006) observaram que o solo que recebeu adubação orgânica apresentou atividade enzimática maior que o solo sob manejo convencional, o que é coerente com a aplicação de material orgânico no solo e conseqüente estímulo da atividade microbiana.

Monreal & Bergstrom (2000) identificaram complexos de enzimas mineralizadoras de nutrientes do solo expressando a influência do uso da terra, do sistema de manejo e da textura sobre a qualidade bioquímica do solo em sistemas envolvendo milho, soja, trigo e aveia. As atividades de desidrogenase, β -glucosidase, L-glutaminase, urease, fosfatase alcalina e aril-sulfatase foram medidas, sendo as amostras retiradas de Gleissolos e Luvisolos não cultivados, sob cultivo convencional e reduzido. A análise de discriminação mostrou que 96% da dispersão total da atividade enzimática correspondem ao tipo de uso do solo e ao sistema de manejo adotado. A análise de agrupamento auxiliou na definição de sete níveis de atividades enzimáticas do solo, variando de níveis muito baixos (a maioria em solos sob cultivo convencional) até níveis muito altos (a maioria em solos não cultivados ou sob cultivo reduzido).

As enzimas extracelulares podem ser estabilizadas nos colóides do solo e manter sua atividade durante longos períodos de tempo (Burns, 1982; Nannipiere et al, 1996). Busto & Perez-Mateos (1995) extraíram os componentes húmicos do solo e mostraram que este extrato apresentava em torno de 50% da atividade total da β -glucosidase do solo. Vários outros autores mostraram que várias enzimas extracelulares, como fosfatases, β -glucosidases e ureases, podem ser complexadas e estabilizadas pela matéria orgânica e pela argila do solo (Gianfreda et al., 1995; Rao et al., 2000; Busto & Perez-Mateos, 2000; Knight & Dick, 2004). Esta imobilização das enzimas nos

colóides do solo pode protegê-las da degradação pelas enzimas proteolíticas. Por isso, solos com maiores teores de matéria orgânica e argila tendem a apresentar uma maior atividade enzimática.

Outro fator que influencia diretamente a atividade dos microrganismos do solo, e conseqüentemente as atividades enzimáticas, é a temperatura. Ela desempenha papel chave no controle dos ciclos biogeoquímicos do solo, com efeitos sobre o conteúdo de carbono dissolvido (Tipping et al., 1999), e emissões de CO₂ (Moore & Dalva, 1993) e CH₄ (Wilson et al., 1989 in Fenner et al., 2005), bem como sobre a disponibilidade de nutrientes (Koerselman et al., 1993).

Bergstrom et al. (1998) constataram que a maioria das enzimas de solo apresenta um padrão de atividade variável ao longo do ano, em função das condições climáticas e de seus respectivos efeitos sobre a atividade da vida do solo. Também Vepsäläinen et al. (2001) verificaram que as atividades de enzimas variaram consideravelmente entre os locais e as datas de amostragem, contrariamente às análises físicas e químicas dos solos.

Essas variações que ocorrem no ambiente ao longo do ano afetam de maneira diferente cada enzima. Sabe-se, por exemplo, que a atividade da fosfatase ácida é afetada por mudanças microclimáticas e características químicas do solo, enquanto que enzimas que degradam lignocelulose, como glucosidases e fenol oxidases, são reguladas pela disponibilidade de substrato, o qual também é afetado pela sazonalidade (Sinsabaugh et al., 1992, 1993).

2.2.2.4. Uso das atividades enzimáticas como indicadores de qualidade biológica do solo no Brasil

No Brasil, a maioria dos estudos realizados envolvendo a atividade enzimática do solo foi em regiões de clima tropical, principalmente no Cerrado brasileiro. Nesses locais, observa-se que geralmente a atividade da β -glucosidase varia de 24 a 350 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ na profundidade de 0 a 5cm, sendo que nem sempre os locais de vegetação nativa apresentam os maiores valores quando comparados aos solos cultivados (Mendes et al., 2003; Matsuoka et al., 2003; Reis-Júnior e Mendes, 2006;). Já a atividade da

fosfatase ácida geralmente é superior em áreas sob vegetação nativa, e os valores comumente encontrados variam de 260 a 1500 μg de ρ -nitrofenol g^{-1} solo h^{-1} na profundidade de 0 a 5 cm (Op. cit.)

Nos últimos anos, tem aumentado o interesse da pesquisa brasileira nesta área. No último FERTBio, realizado em Bonito (MS) em 2006, vários autores apresentaram resultados de pesquisa utilizando a atividade enzimática como indicador de qualidade, entre eles Melo et al. (2006), Paula et al. (2006), Reis-Júnior & Mendes (2006) e Ribeiro et al. (2006). Mas a maioria dos dados continua sendo obtida nas regiões Sudeste e Centro-oeste brasileiro e avaliando-se apenas uma classe de solo em cada estudo.

No Rio Grande do Sul, os trabalhos mais relevantes foram realizados por Conte et al. (2002), Schmitz (2003) e Matsuoka (2006).

Conte et al. (2002) avaliaram o efeito de diferentes doses de fósforo na atividade da fosfatase ácida em Latossolo Vermelho, na região das Missões do Rio Grande do Sul, em sistema sob plantio direto. Esses autores concluíram que a atividade desta enzima, neste tipo de solo e manejo, não foi influenciada pela adição de fósforo inorgânico.

Schmitz (2003), estudando a biomassa microbiana, respiração microbiana e atividades de β -glucosidase, urease, amidase, fosfatase ácida e aril-sulfatase em um Argissolo concluiu que o uso conjunto destas variáveis mostrou-se adequado para avaliar a qualidade do solo e discriminar as diferentes coberturas vegetais avaliadas no trabalho. Ainda neste sentido, Matsuoka (2006) avaliou a atividade enzimática em Cambissolo Háplico, Cambissolo Húmico e Neossolo Litólico cultivados com videira na Serra Gaúcha, e concluiu que as atividades de β -glucosidase, urease, amidase, fosfatase ácida e aril-sulfatase foram sensíveis às alterações ocorridas em função do manejo e dos diferentes tipos de solo.

Apesar de serem indicadores sensíveis para avaliar a qualidade do solo, é necessário o estabelecimento de cuidadosas relações destas com os contextos de clima e solo para que estas avaliações possam ser eficazes. O Rio Grande do Sul apresenta regiões bem distintas de tipos de solo e manejos

em relação aos outros locais do país onde a atividade enzimática vem sendo estudada. Dentro do Estado do RS ocorrem diferentes tipos de solo, uma grande variação climática, topográfica e geológica, assim como uma diversidade de culturas e práticas de manejo utilizadas na agricultura.

Em vista da grande quantidade de fatores que interferem na atividade enzimática, e da variabilidade edáfica e agrícola do Rio Grande do Sul, faz-se necessário conhecer as propriedades microbiológicas dos principais solos do Estado e relacioná-las com suas propriedades químicas e físicas, para que posteriormente as atividades enzimáticas possam efetivamente ser utilizadas como indicadores de qualidade destes solos.

3. HIPÓTESES E OBJETIVOS

Hipóteses

As atividades de β -glucosidase, urease, fosfatase ácida e hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) são indicadores sensíveis que podem ser utilizados no monitoramento do componente biológico da qualidade dos solos sob uso agrícola no Rio Grande do Sul.

As atividades de β -glucosidase, urease, fosfatase ácida e hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) são influenciadas por características químicas e físicas e/ou biológicas dos solos.

Objetivo Geral

Determinar as atividades enzimáticas de β -glucosidase, urease, fosfatase ácida e hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) em diferentes solos do Rio Grande do Sul, sob diferentes usos e sistemas de manejo agrícola.

Objetivos Específicos

- Estabelecer parâmetros para a utilização das atividades enzimáticas como indicadores biológicos da qualidade dos solos submetidos a diferentes condições de manejo no Rio Grande do Sul.
- Relacionar as atividades enzimáticas com os atributos químicos, físicos e biológicos dos solos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Caracterização das áreas de estudo:

O trabalho foi realizado em 11 localidades do Estado do Rio Grande do Sul, abrangendo regiões com diferentes características climáticas e geotopográficas. Em cada local, foram coletados solos de áreas com vegetação nativa como referenciais e de áreas cultivadas, tanto sob sistema convencional como sob sistemas de manejo conservacionistas.

Os locais onde as coletas foram realizadas estão representados na Figura 01 e descritos a seguir, e as coordenadas dos locais apresentadas no apêndice 01.

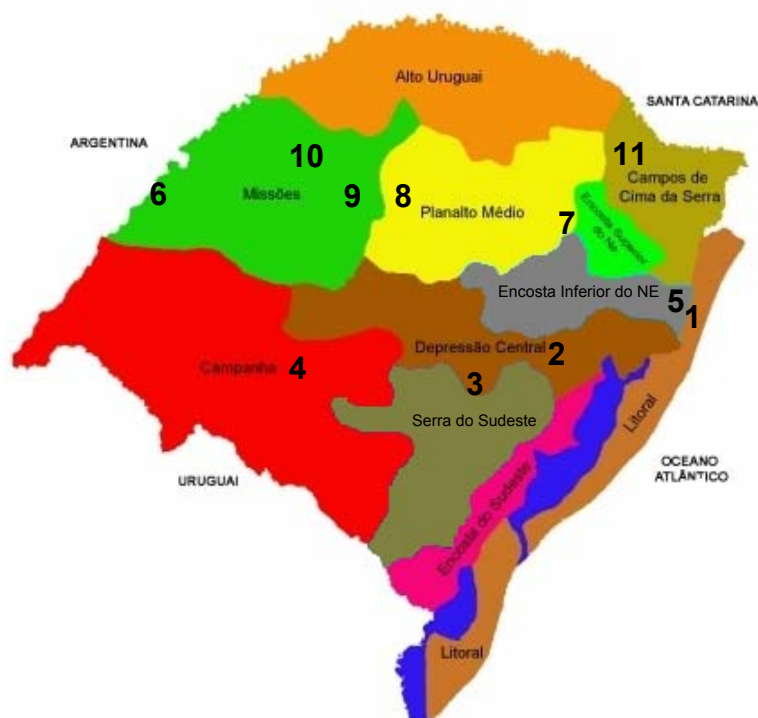


Figura 01: Mapa das regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul com a indicação dos locais onde foram realizadas as coletas de solo. (1=Morro Alto, 2=Eldorado do Sul, 3=Encruzilhada do Sul, 4=São Gabriel, 5=Maquiné, 6=São Borja, 7=Bento Gonçalves, 8=Ibirubá, 9=Cruz Alta, 10=Santo Ângelo, 11=Vacaria).

4.1.1. Locais das coletas de solo

Área Morro Alto (MA) - Município de Maquiné, propriedade do Sr. Guido Renato Sander na localidade de Morro Alto.

Classificação do solo: Neossolo Quartzarênico hidromórfico típico.

Situação de uso do solo:

Mata nativa (MATA);

Campo nativo (CAMPO);

Lavoura de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill) sob sistema convencional de manejo de solo há três anos, sendo que o local originalmente era ocupado por vegetação nativa (campo com predominância de gramíneas). A lavoura recebeu aplicação de corretivos e fertilizantes conforme recomendação de análise de solo (CONV).

Área Eldorado do Sul (E) - Município de Eldorado do Sul, Estação Experimental da Faculdade de Agronomia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Experimento implantado há 20 anos, formado por parcelas de 5X10m, com 3 repetições cada.

Classificação do solo: Argissolo Vermelho distrófico típico.

Situação de uso do solo:

Campo nativo (CAMPO);

Parcela com cultivo de milho (*Zhea mays* L.) no verão e aveia preta (*Avena strigosa*) com trevo branco (*Trifolium repens*. L.) no inverno, sob sistema de manejo de solo de plantio direto. Com utilização de adubação nitrogenada (PD).

Parcela com cultivo de milho no verão e aveia preta com trevo branco no inverno, sob sistema de manejo de solo convencional. Com utilização de adubação nitrogenada (CONV).

Área Encruzilhada do Sul (ES) - Município de Encruzilhada do Sul, propriedade do Sr Sadi Fuchs.

Classificação do solo: Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico.

Situação de uso do solo:

Mata nativa (MATA);

Campo nativo (CAMPO);

Lavoura de soja (*Glycine max*) sob sistema de manejo de solo de plantio direto há 15 anos, com cobertura de aveia preta no inverno. Recebeu aplicação de corretivos e fertilizantes conforme recomendação de análise de solo (PD).

Lavora de milho sob sistema convencional de manejo de solo, sendo 2005 o segundo ano de cultivo. Antes o local estava sob vegetação nativa (campo com predominância de gramíneas) (CONV).

Área São Gabriel (SG) - Município de São Gabriel, Estação Experimental da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO).

Classificação do solo: Argissolo Vermelho distrófico típico.

Situação de uso do solo:

Mata nativa (MATA);

Campo nativo (CAMPO);

Lavoura de soja sob sistema de manejo de solo de plantio direto, sendo utilizada como cobertura a vegetação nativa que se desenvolve espontaneamente no inverno (PD).

Área de cultivo de aveia preta sob sistema de manejo de solo convencional, para obtenção de sementes, com aplicação de corretivos de acidez (CONV).

Área Maquine (M) – Município de Maquiné, Estação Experimental da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO).

Classificação do solo: Chernossolo Háptico órtico típico.

Situação de uso do solo:

Mata nativa (MATA);

Campo nativo (CAMPO);

Lavoura de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) sob sistema convencional de manejo de solo há 20 anos. Sem aplicação de corretivo e fertilizante. No inverno o local é deixado sem cultivo, somente com vegetação nativa espontânea, e o manejo para controle dessa vegetação é feito com herbicida (CONV).

Área São Borja (SB) - Município de São Borja, Estação Experimental da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO).

Classificação do solo: Nitossolo Vermelho distroférico.

Situação de uso do solo:

Mata nativa (MATA);

Campo nativo (CAMPO);

Lavoura de soja sob sistema de manejo de solo de plantio direto, com cultivo de aveia preta no inverno (PD).

Pastagem degradada, com solo compactado e cobertura vegetal irregular (CONV).

Área Bento Gonçalves (BG) - Município de Bento Gonçalves, sede do Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

Classificação do solo: Cambissolo Háplico eutrófico

Situação de uso do solo:

Mata nativa (MATA);

Cultivo de videiras (*Vitis vinifera* L.), sob manejo alternativo, ou seja, com rebaixamento das coberturas remanescentes com roçada antes da semeadura das espécies anuais, quando as parreiras começam a rebrotar. A espécie anual utilizada é a ervilhaca (*Vicia sativa*) (PD).

Cultivo de videiras, com vegetação nativa espontânea nas entrelinhas controlada com uso de herbicidas uma vez ao ano (CONV).

Área Ibirubá (IB) - Município de Ibirubá, propriedade do Sr. Almir Floss.

Classificação do solo: Latossolo Vermelho distrófico.

Situação de uso do solo:

Mata nativa com presença de araucárias (MATA);

Campo nativo com pastagem perene de tifton (*Cynodon nlemfuensis*) há 10 anos (CAMPO).

Lavoura de soja sob sistema de manejo de solo de plantio direto e com rotação de culturas, com o seguinte esquema de sucessão: centeio (*Secale cereale* L.) / milho / trigo (*Triticum aestivum*) / soja (PD).

Pastagem com milheto (*Pennisetum glaucum*), sendo a área preparada sob sistema convencional de manejo de solo 30 dias antes da primeira coleta de solo. A cobertura antes utilizada nessa área era de sorgo (*Sorghum bicolor*) no verão e aveia preta e azevém (*Lolium multiflorum*) no inverno (CONV).

Área Cruz Alta (CA) - Município de Cruz Alta, área experimental da Fundação Centro de Experimentação e Pesquisa Fecotriga (FUNDACEP FECOTRIGO). Experimento implantado há 20 anos, com parcelas medindo 10X20 m.

Classificação do solo: Latossolo Vermelho distrófico.

Situação de uso do solo:

Mata nativa (MATA);

Campo nativo (CAMPO);

Parcela com cultivo de soja, sob manejo de solo de plantio direto de cultivo e rotação de culturas, com o seguinte esquema de sucessão: soja / ervilhaca + aveia preta / milho / trigo / soja / aveia preta. Utilização de fertilizantes e corretivos conforme recomendação de análise de solo (PD).

Parcela com cultivo de soja sob sistema convencional de manejo de solo, com cultivo de trigo no inverno. Utilização de fertilizantes e corretivos conforme recomendação de análise de solo (CONV).

Área Santo Ângelo (StA) - Município de Santo Ângelo, área experimental da Cooperativa Triticola Regional Santo Ângelo Ltda. (COTRISA). Experimento implantado há 20 anos, com parcelas medindo 20X30 m.

Classificação do solo: Latossolo Vermelho distroférico.

Situação de uso do solo:

Mata nativa (MATA);

Campo nativo (CAMPO);

Parcela sob sistema de preparo de solo de plantio direto e com rotação de culturas, com o seguinte esquema de sucessão até 2004: canola (*Brassica napus* L.) / soja / trigo / soja / aveia e trevo branco / milho. Na ocasião da primeira coleta o solo estava sem cultivo, apenas com a palha remanescente da colheita do girassol (*Helianthus annuus*), que foi utilizado em substituição à soja (PD).

Parcela sob sistema convencional de preparo de solo, com cultivo de trigo no inverno. Utilização de fertilizantes e corretivos conforme recomendação de análise de solo. Na ocasião da primeira coleta o solo estava sem cultivo, apenas com a palha remanescente da colheita do girassol, que foi utilizado em substituição à soja (CONV).

Área Vacaria (V) - Município de Vacaria, propriedade do Sr. Raul Basso (Sementes Basso).

Classificação do solo: Latossolo Bruno alumínico

Situação de uso do solo:

Mata nativa com presença de araucárias (MATA);

Campo nativo (CAMPO);

Lavoura sob sistema de preparo de solo de plantio direto e rotação de culturas, com o seguinte esquema de sucessão: canola / milho / aveia preta /soja / trigo / feijão / pastagem (gramínia+leguminosa) / milho. Na ocasião da primeira amostragem (novembro de 2005) o solo estava sendo semeado com soja (PD).

As características químicas dos solos destes onze locais, assim como seus teores de argila estão apresentados nos apêndices 06, 07 e 08 e suas características climáticas estão apresentadas nos apêndices 02, 03, 04 e 05.

4.2. Coleta e preparo das amostras

Em cada local demarcado, foram feitas três repetições de amostragem. Para isso foi utilizado um trado calador, na profundidade de 0 a 20 cm. Foram coletadas 20 sub-amostras para a formação das amostras compostas de cada unidade amostral. As amostras foram colocadas em sacos plásticos e transportadas até o laboratório, onde foram homogeneizadas, peneiradas (2 mm) e refrigeradas a 4° C, com umidade de campo, até o momento da realização das análises de atividade enzimática. Para a realização das análises de respiração e biomassa microbiana, as amostras foram homogeneizadas e peneiradas a 4mm. Foi retirada uma porção de 50 g de solo de cada amostra para a determinação do teor de umidade, por secagem em estufa a 105°C até peso constante. Uma fração de cada uma das amostras,

com aproximadamente 500g foi separada para a realização das análises complementares descritas no item 4.4.

As amostragens de solo para fins de avaliação das atividades enzimáticas, respiração e biomassa microbianas foram realizadas em duas épocas do ano, no início do verão (novembro e dezembro de 2005) e no início do inverno (maio e junho de 2006), de maneira a alcançar os extremos climáticos em cada local. Para a realização das análises complementares, foram utilizadas apenas as amostras coletadas no período estival.

4.3. Avaliação da Atividade Enzimática

Foram determinadas as atividades potenciais de três enzimas de solo: urease, β -glucosidase, fosfatase ácida, e a hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), conforme os procedimentos descritos em Dick et al. (1996) para as três primeiras e segundo metodologia de Adam & Duncan (2001) para a hidrólise de FDA.

Os que envolvem as atividades de β -glucosidase e fosfatase ácida baseiam-se na quantificação do corante p -nitrofenol, liberado pela ação da enzima, quando o solo é incubado com um substrato específico. O p -nitrofenol é extraído por filtração e determinado colorimetricamente.

Já o método para avaliação da atividade da urease baseia-se na quantificação de NH_4 liberado durante o período de incubação do solo com uma quantidade conhecida de uréia. A quantificação do NH_4 é feita por titulação.

Nos três primeiros procedimentos foi empregado o tolueno para inibir o crescimento e a atividade microbiana, e conseqüentemente a síntese de enzimas durante a incubação. Assim, os dados obtidos são resultados apenas da atividade de enzimas livres ou imobilizadas no solo.

A metodologia para a determinação da hidrólise do diacetato de fluoresceína se baseia na quantificação da fluoresceína, formada após a

reação de lipases, proteases e esterases com o substrato. A fluoresceína é determinada colorimetricamente após centrifugação e filtração.

4.3.1. β -glucosidase

O substrato utilizado na reação desta enzima é o *p*-nitrofenil- β -D-Glucopyranosídeo 0,05 M (PNG 0,05 M).

Amostras de solo (1,0 g) foram colocadas em erlenmeyer de 50 ml, sendo utilizado um controle onde só foi adicionado o substrato após a incubação. Em seguida, foram adicionados 250 μ L de Tolueno, 4,0 ml da solução MUB pH 6 a todas as amostras e 1,0 ml de PNG 0,05 M, com exceção dos controles. Os erlenmeyers foram fechados com rolhas de borracha e incubados a 37° C por uma hora. Após a incubação, foram adicionados 1,0 ml de CaCl₂ 0,5 M, 4,0 ml de Tris-Hydroxymetyl-Amino-Metano (THAM pH 12) e 1,0 ml de PNG 0,05 M (somente aos controles). Procedeu-se em seguida à filtração em papel de filtro nº 2. A intensidade da coloração amarela do filtrado foi determinada num espectrofotômetro a 410 nm.

A quantidade de *p*-nitrofenol formada em cada amostra foi determinada com base numa curva padrão preparada com concentrações conhecidas de *p*-nitrofenol (0, 10, 20, 30, 40, 50 mg de *p*-nitrofenol ml⁻¹). A atividade enzimática é expressa em μ g de *p*-nitrofenol liberado por hora por grama de solo (μ g *p*-nitrofenol h⁻¹ g⁻¹ solo seco).

4.3.2. Fosfatase Ácida

O substrato utilizado na reação desta enzima é o *p*-nitrofenil fosfato 0,05 M (PNF 0,05 M).

Foram colocadas amostras de solo (1,0 g) em erlenmeyer de 50 ml, utilizando um controle onde só foi adicionado o substrato após a incubação. Em seguida, foram adicionados 200 μ L de Tolueno, 4,0 ml da solução MUB pH 6,5 em todos os frascos e 1,0 ml de PNF 0,05 M, com exceção dos controles. Os erlenmeyers foram fechados com rolhas de borracha e incubados a 37° C por uma hora. Após a incubação, foram adicionados 1,0 ml de CaCl₂ 0,5 M, 4,0 ml

de NaOH 0,5 M e 1,0 ml de PNF 0,05M (somente aos controles), procedendo-se em seguida à filtragem em papel de filtro nº 02. A intensidade da coloração amarela do filtrado foi determinada num espectrofotômetro a 410 nm.

A quantidade de *p*-nitrofenol formada em cada amostra foi determinada com base numa curva padrão preparada com concentrações conhecidas de *p*-nitrofenol (0, 10, 20, 30, 40, 50 mg de *p*-nitrofenol ml⁻¹). A atividade enzimática é expressa em µg de *p*-nitrofenol liberado por hora por grama de solo (µg *p*-nitrofenol h⁻¹ g⁻¹ solo seco).

4.3.3. Urease

O substrato utilizado na reação desta enzima é uma solução de uréia 0,2M.

Foram colocadas amostras de solo (5,0 g) em frascos volumétricos de 50 ml, utilizando um controle onde só foi adicionado o substrato após a incubação. Em seguida, foram adicionados 200 µL de Tolueno, 9,0 ml da solução THAM pH 9,0 em todos os frascos e 1,0 ml da solução de uréia 0,2 M, com exceção dos controles. Os frascos foram fechados e incubados a 37°C por duas horas. Após a incubação, foram adicionados aproximadamente 35 ml de solução gelada de KCl-Ag₂SO₄ e 1,0 ml de solução de uréia 0,2M (somente aos controles) misturando por alguns segundos. Posteriormente, o conteúdo foi ajustado para 50 ml com adição de KCl-Ag₂SO₄, e os frascos foram invertidos por diversas vezes para misturar o conteúdo.

Para determinar N-NH₄⁺ na suspensão de solo resultante, foi pipetada uma alíquota de 20 ml da suspensão para um frasco de destilação de 100 ml, e procedeu-se a destilação a vapor desta alíquota com 0,2g de MgO por 4 minutos, como descrito por Tedesco et al. (1995), para análise do N-NH₄⁺ do solo. A atividade enzimática é expressa em µg de N-NH₄⁺ liberado por duas horas por grama de solo (µg N-NH₄⁺ 2h⁻¹ g⁻¹ solo seco).

4.3.4. Hidrólise do diacetato de fluoresceína

O substrato utilizado na reação desta enzima é uma solução de diacetato de fluoresceína 1000µg/ml.

Foram colocadas amostras de solo (2,0g) em frascos volumétricos de 50 ml, utilizando um controle onde só foi adicionado o substrato após a incubação. Em seguida, foram adicionados 15 ml de tampão fosfato 60 mM pH 7,6 em todos os frascos e 0,2 ml da solução de diacetato de fluoresceína 1000µg/ml, com exceção dos controles. Os frascos foram fechados, agitados manualmente e então colocados em agitador orbital a 30°C por 20 minutos. Após este período, foram adicionados 15 ml de solução de clorofórmio/metanol (2:1 v/v) para finalizar a reação. Novamente os frascos foram agitados manualmente com força, e então centrifugados a 2000 rpm por 3 minutos. Posteriormente, o sobrenadante de cada amostra foi filtrado em papel filtro nº2 em frascos de 50ml. A intensidade da coloração verde do filtrado foi determinada num espectrofotômetro a 490 nm. A absorbância foi medida também nas amostras controle, que não receberam adição de diacetato fluoresceína e então foi subtraído o valor da absorbância do tratamento sem adição de substrato, do valor de absorbância do tratamento com fluoresceína.

A quantidade de fluoresceína formada em cada amostra foi determinada com base numa curva padrão preparada com concentrações conhecidas de fluoresceína (0, 1, 2, 3, 4, 5 µg de fluoresceína ml⁻¹). A atividade enzimática é expressa em µg fluoresceína liberado por dia por grama de solo seco (µg F g⁻¹ solo seco).

4.4. Análises complementares

4.4.1. Atributos biológicos

4.4.1.1. Carbono da biomassa microbiana

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi determinado segundo o método proposto por Jenkinson & Powlson (1976) de Fumigação-Incubação, com algumas modificações descritas a seguir.

Foram utilizadas, de cada amostra de solo, duas sub amostras cujo teor de umidade era equivalente a 75% da capacidade de campo. Uma delas, pesando 50 g, foi colocada em recipientes de vidro com tampas herméticas e capacidade de 800 ml. A segunda amostra, pesando 45 g, foi colocada em copo de vidro de 200 ml e fumigada em dessecador acoplado a uma bomba de vácuo, contendo um becker de 50 ml com 20 ml de clorofórmio livre de álcool e com as paredes forradas com papel úmido. As amostras de solo foram mantidas em dessecador por 24 horas. Após o período de fumigação, o vapor de clorofórmio foi retirado através de evacuações sucessivas, sendo as amostras então retiradas do dessecador e colocadas também em recipientes de vidro com tampas herméticas e capacidade de 800 ml. Os solos fumigados foram reinoculados com 5,0 g de solo, da mesma amostra original. Com uma espátula, foi feita a homogeneização de todas as amostras de solo e, em cada vidro, foi colocado um copo plástico de 80 ml, contendo 20 ml de NaOH 0,5 M. As amostras foram mantidas no escuro por dez dias à temperatura ambiente. A quantidade de CO₂ liberada do solo foi determinada após adição de 3,0 ml de BaCl₂ 30% e posterior titulação com HCl 0,3 M, usando fenolftaleína 1% como indicador. Foram utilizados como controle, três recipientes de vidro sem solo contendo a mesma solução de NaOH. Para o cálculo da quantidade de CO₂ liberada, tanto das amostras fumigadas, quanto das amostras não fumigadas foi utilizada a seguinte fórmula, proposta por Jenkinson et al. (1976).

$$\text{mg C-CO}_2 = (C-A) \cdot M \cdot E$$

onde:

C= volume (ml) do ácido usado para titular a base referente ao controle;

A= volume (ml) do ácido usado para titular a base referente a amostra fumigada ou não fumigada;

M= molaridade do ácido;

E= equivalente grama do carbono (6).

O carbono da biomassa microbiana foi calculado pela diferença entre o CO₂ liberado das amostras fumigadas (F_C) e amostras não fumigadas (NF_C), utilizando um fator de correção de 1,73 para as amostras fumigadas e

0,56 para as amostras não fumigadas, conforme a fórmula abaixo, proposta por Horwath et al. (1996).

$$CBM = 1,73F_C - 0,56NF_C$$

onde:

CBM= carbono da biomassa microbiana;

F_C = C-CO₂ liberado pelo solo fumigado no período de 10 dias;

NF_C = C-CO₂ liberado pelo solo não fumigado no período de 10 dias;

Os dados de carbono da biomassa microbiana foram expressos em mg C-CO₂ Kg⁻¹ de solo seco.

4.4.1.2. Respiração Microbiana

A avaliação da respiração microbiana (RM) foi realizada juntamente com a avaliação do CBM, sendo estimada pela quantidade de CO₂ liberado do solo não fumigado durante 20 dias de incubação. As unidades experimentais foram constituídas por recipientes de vidro de 800 ml com tampas herméticas. Foi utilizada uma amostra de 50 g de solo, incubada a temperatura ambiente, com a umidade ajustada para 75% de sua capacidade de campo. Também foram utilizados três recipientes sem solo como controle.

O CO₂ produzido foi capturado por 20ml de uma solução de NaOH 0,5 M e quantificado por titulação com HCl 0,3 M, sendo adicionado anteriormente 3 ml de BaCl₂ 30% e utilizado fenolftaleína a 1% como indicador. Durante esse período, foram realizadas duas titulações, a primeira aos dez dias e a segunda aos vinte dias após o início da incubação das amostras, sendo os valores somados para obter-se o valor referente ao período de 0 a 20 dias de incubação. Os dados de respiração microbiana foram expressos em mg C-CO₂ kg⁻¹ solo seco.

4.4.2. Atributos químicos e físicos

As análises químicas e físicas realizadas nas amostras foram: teores de argila, carbono orgânico, P, K, Ca, Al e Mg, pH, umidade gravimétrica e capacidade de troca de cátions. Os procedimentos metodológicos para estas

análises, com exceção do carbono orgânico, foram realizados conforme descrito em Tedesco et al. (1995). O teor total de carbono orgânico foi determinado no analisador de carbono orgânico da marca Shimadzu conforme metodologia descrita por Matsuoka (2006).

4.5. Análise estatística dos resultados

Para cada atributo biológico avaliado os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias de cada atributo dentro de cada local foram comparadas entre si através do teste t de Student, ao nível de significância de 5%. Para estas análises foi utilizado o programa SISVAR. Além disso, foram calculadas as correlações entre as variáveis biológicas e as variáveis químicas e físicas do solo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Carbono da biomassa microbiana (CBM)

Os diferentes locais de coleta e os sistemas de preparo de solo (convencional e plantio direto) avaliados influenciaram o carbono da biomassa microbiana promovendo variações entre os usos do solo, sistemas de manejo e locais nas duas épocas de amostragem (Figuras 02 e 03).

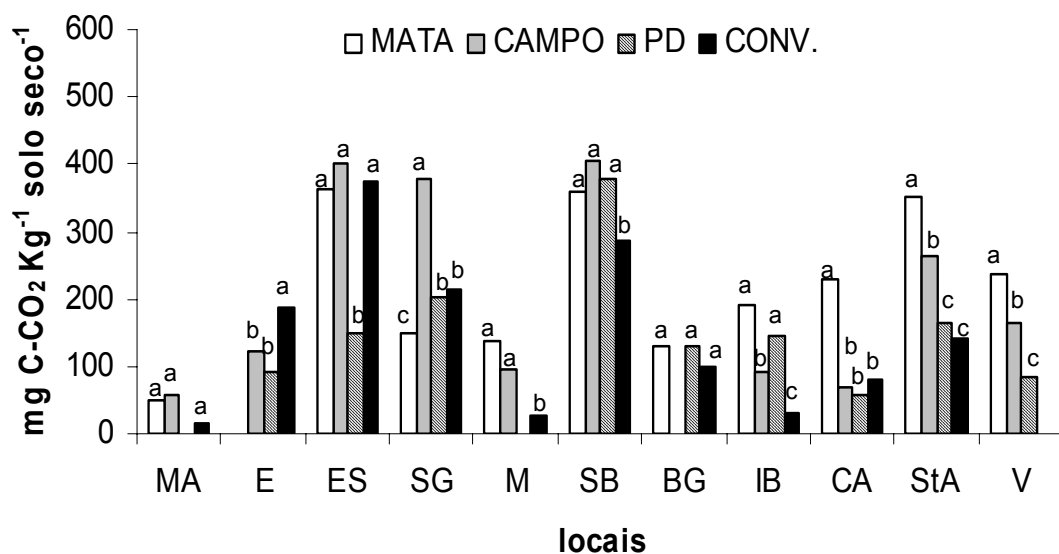


Figura 02: Carbono da biomassa microbiana em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

Na coleta de solo realizada entre novembro e dezembro de 2005, os valores de carbono da biomassa microbiana variaram de 12 a 383 mg C-CO₂ Kg de solo seco⁻¹ (Apêndice 11), sendo os menores valores observados em Morro Alto, em solo sob sistema convencional de cultivo de abacaxi, e os maiores valores em Encruzilhada do Sul e São Borja, em solos sob campo nativo.

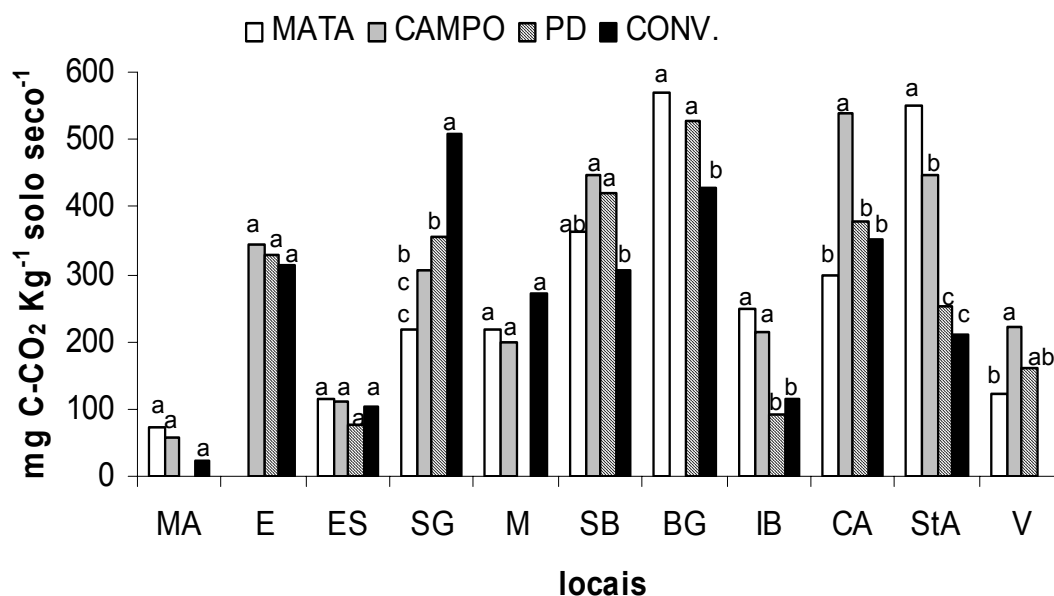


Figura 03: Carbono da biomassa microbiana em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

Com relação às diferenças entre os locais avaliados, vários fatores podem ter determinado estes resultados. Diferenças climáticas entre os locais, diferentes tipos de coberturas dos solos, assim como a variação nos teores de argila e carbono orgânico influencia diretamente a comunidade microbiana do solo. Mas, ao contrário de outros trabalhos (Baretta et al., 2005; Böhme et al., 2005) não foi observada uma correlação significativa entre o CBM e o teor de argila ou de carbono orgânico dos solos avaliados.

Em mais da metade dos locais avaliados, (Figura 02), não houve diferença estatística entre as áreas nativas e as cultivadas na coleta realizada

entre novembro e dezembro de 2005. Já em São Gabriel, Maquiné, Cruz Alta, Santo Ângelo e Vacaria os maiores valores do CBM foram observados nas áreas de vegetação nativa. Segundo Kandeler et al (1999) a biomassa diminui em solos cultivados quando comparados aos solos sob vegetação nativa do local.

Matsuoka et al. (2003) trabalhando com Latossolos da região centro-oeste brasileira obtiveram valores de CBM em vegetação nativa quase três vezes superior ao observado nas áreas cultivadas. Reis-Júnior e Mendes (2006), estudando solos do Cerrado, encontraram valores de CBM em torno de 800 mg C-CO₂ Kg de solo seco⁻¹ nas áreas de vegetação nativa, e de no máximo 320 mg C-CO₂ Kg de solo seco⁻¹ nas áreas cultivadas. Vários fatores contribuem para uma maior biomassa microbiana nas áreas nativas, como a ausência de preparo de solo, adição contínua de resíduos, melhor distribuição do sistema radicular e a maior diversidade florística (Bandick & Dick, 1999).

Os maiores valores de CBM encontrados em solos sob mata comparados aos solos sob campo se devem às condições descritas anteriormente, mas em alguns locais esses valores foram maiores em áreas sob campo nativo. Isto ocorreu em São Gabriel, havendo diferença estatística entre campo e mata (Figura 2), e nas áreas de Morro Alto, Encruzilhada do Sul e São Borja, mas nestas sem diferença estatística entre campo e mata. Nessas situações específicas, outros fatores, como o menor pH do solo da mata, podem estar inibindo o desenvolvimento dos microrganismos.

Na amostragem realizada entre novembro e dezembro de 2005, na maioria dos locais avaliados não houve diferença estatística entre os sistemas de plantio direto e convencional. Mas em São Borja, Ibirubá e Vacaria os valores de CBM forma superiores estatisticamente no plantio direto em relação ao convencional.

Mendes et al. (2003) trabalhando com um Latossolo no Cerrado encontraram maiores valores de CBM em plantio direto, chegando a ser quase duas vezes superior ao plantio convencional. Corroborando com estes resultados, Reis-Júnior e Mendes (2006), também em solos do Cerrado

brasileiro, obtiveram valores de CBM de 319 mg C-CO₂ Kg de solo seco⁻¹ em plantio direto e de 226 mg C-CO₂ Kg de solo seco⁻¹ em plantio convencional.

No Rio Grande do Sul, Vargas & Scholles (2000), em estudos realizados em um Argissolo, também encontraram os maiores valores de CBM em plantio direto e os menores em plantio convencional, variando de 124 a 258 mg C-CO₂ Kg de solo seco⁻¹.

No plantio direto não há revolvimento do solo. Este sistema, além de favorecer a preservação das hifas fúngicas, maior componente da biomassa microbiana, também mantém as condições do solo mais favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos. A manutenção de uma camada de palha sobre o solo no sistema de plantio direto mantém a umidade do mesmo e diminui as oscilações de temperatura neste ambiente, favorecendo o desenvolvimento microbiano.

Na segunda amostragem, realizada entre maio e junho de 2006 (Figura 03), os valores de carbono da biomassa microbiana foram superiores aos obtidos na primeira amostragem. Neste período os valores de CBM variaram entre 24 e 569 mg C-CO₂ Kg de solo seco⁻¹ (Apêndice 11). Mas ao contrário do que foi observado na primeira amostragem, na segunda não houve diferença estatística entre as áreas nativas e áreas cultivadas, apenas em Ibirubá, Cruz Alta e Santo Ângelo os solos sob vegetação nativa apresentam maiores valores de CBM em relação aos solos cultivados (Figura 03).

Os maiores valores de CBM observados nos solos amostrados entre maio e junho de 2006 podem ser explicados pela maior umidade destes solos (Apêndice 10), pois uma maior disponibilidade de água favorece os microrganismos do solo. Masto et al. (2006), na Índia, também encontraram maiores valores de CBM nas épocas mais úmidas de amostragem de solo.

Nesta segunda amostragem apenas em São Borja e Bento Gonçalves o plantio direto apresentou maiores valores de CBM em relação ao plantio convencional (Figura 03). Já em São Gabriel a área cultivada sob plantio convencional apresentou os maiores valores de CBM. Algumas peculiaridades deste local neste período podem ter determinado estes

resultados. O solo deste local havia sido recentemente revolvido, incorporando ao solo a palha remanescente do cultivo da aveia. A disponibilidade de nutrientes e resíduos orgânicos, aliada à aeração do solo promovida pelo revolvimento, pode temporariamente ter estimulado a microbiota, favorecendo assim o aumento da biomassa.

Em Vacaria e Cruz Alta, nas amostras coletadas entre maio e junho de 2006, os solos sob campo apresentaram maiores valores de CBM quando comparados à mata, ao contrário do que ocorreu na primeira amostragem, quando a mata apresentou o maior valor de CBM nesses locais. No entanto não foi possível identificar as causas dessas alterações.

Por fim, foi possível observar que os valores de CBM variaram bastante entre as duas coletas, entre os locais avaliados, entre os tipos de uso e os tipos de manejo do solo. No entanto, não foi possível identificar claramente os fatores que levaram a estas variações, podendo ser resultantes das condições climáticas, do manejo e de ações específicas de manejo ou ainda da interação entre estes fatores. A falta de padrão na variação dos resultados indica que não é possível avaliar a qualidade dos solos baseando-se apenas no CBM. Além disso, os valores de CBM não fornecem indicações sobre os níveis de atividade das populações microbianas.

5.2. Respiração Microbiana (RM)

Os valores de respiração microbiana nas amostras de solo coletadas no período estival foram bastante variáveis, encontrando-se entre 30 e 310 mg C-CO₂ Kg⁻¹ de solo seco após 20 dias de incubação (Apêndice 12). O menor valor foi obtido em Ibirubá sob sistema de plantio convencional, e o maior em Encruzilhada do Sul, em solo sob campo nativo (Figura 4).

Nas amostras coletadas entre maio e junho de 2006 a variação da respiração foi menor entre os locais, e praticamente não houve diferenças significativas entre as áreas nativas e cultivadas nos locais avaliados. Os valores variaram entre 14 e 113 mg C-CO₂ Kg⁻¹ de solo seco (Apêndice 12), sendo a menor atividade em Ibirubá, em lavoura sob plantio direto, e a maior em Bento Gonçalves em solo sob mata nativa (Figura 5).

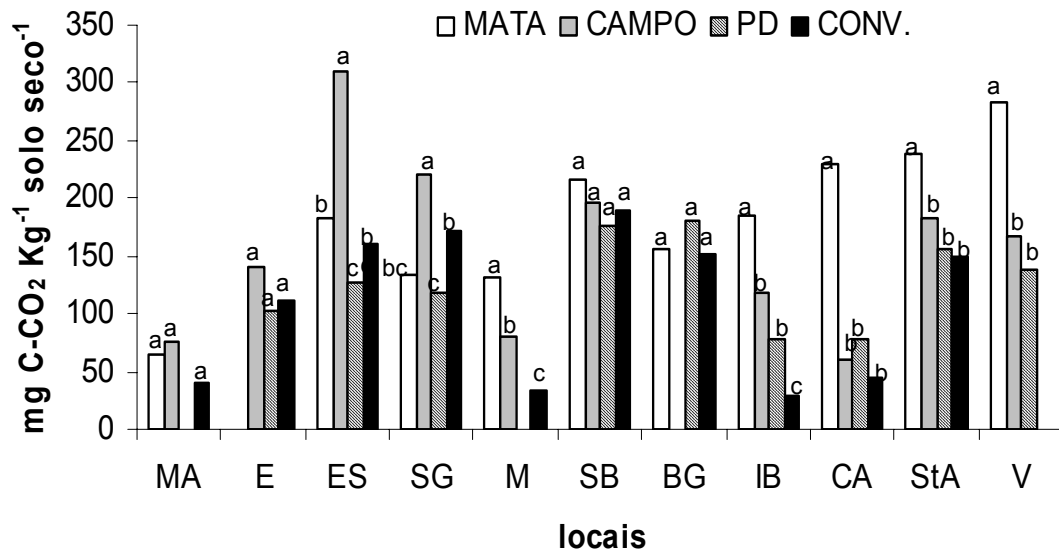


Figura 04-Respiração microbiana acumulada em 20 dias em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

Os menores valores de respiração microbiana observados em todos locais na segunda amostragem se devem às menores temperaturas registradas neste período (Apêndice 02). Insam (1990) concluiu em seus estudos que solos de clima mais quente têm respiração mais elevada ($0,3 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ de solo h}^{-1}$) quando comparados com solos de clima mais frio ($0,1 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ de solo h}^{-1}$).

Na coleta realizada entre novembro e dezembro de 2005 dos onze locais avaliados, sete apresentaram maiores valores de RM nas áreas de vegetação nativa (Figura 04). Uma maior atividade respiratória nessas áreas se deve a grande disponibilidade e variedade de resíduos orgânicos adicionados ao solo, favorecendo também uma maior diversidade microbiana.

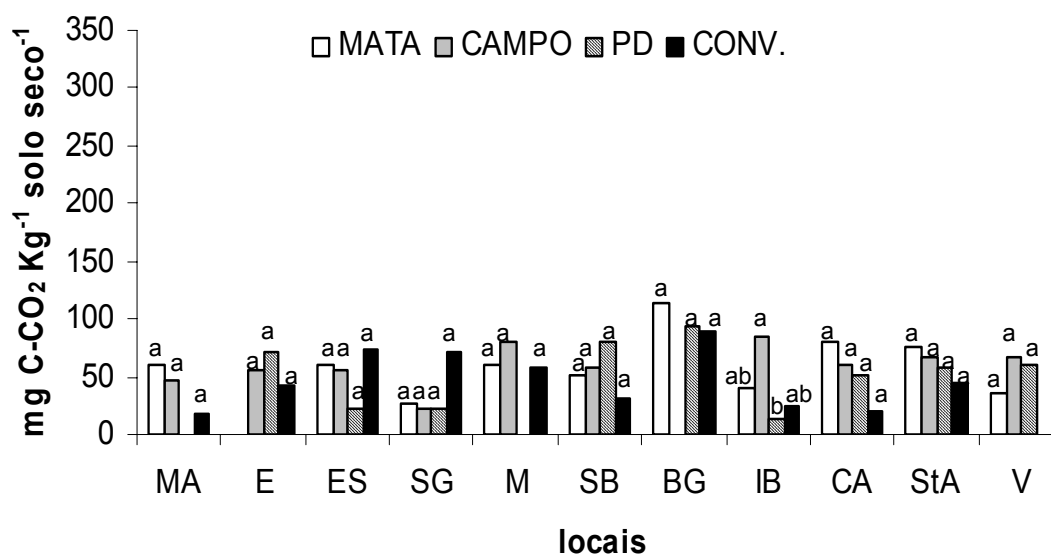


Figura 05- Respiração microbiana acumulada em 20 dias em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

Na maioria dos locais avaliados, a RM foi menor nos solos sob uso agrícola. Segundo Moreira & Siqueira (2006), solos sob interferência antrópica, como é o caso das áreas cultivadas, apresentam mudanças na sua composição e em atividades metabólicas específicas, uma vez que a população microbiana é submetida a um estresse.

Dos onze locais avaliados, apenas Ibirubá apresentou maiores valores de RM no plantio direto em relação ao plantio convencional. Porém, vários autores observaram uma maior RM em sistema de plantio direto quando comparado ao plantio convencional. Balota et al. (1998) em estudos realizados em um Latossolo Vermelho no Paraná obtiveram em sistema de plantio direto trigo/soja valores de RM até duas vezes maiores que no plantio convencional. Vargas & Scholles (2000), em Argissolo no Rio Grande do Sul, encontraram em plantio direto valores mais de duas vezes superiores ao plantio convencional, com uma respiração acumulada em 60 dias de incubação variando de 190 a

493 mg C-CO₂ Kg⁻¹ de solo seco em amostras de solo coletadas no mês de novembro.

Semelhante ao que foi observado nos valores de CBM na segunda amostragem, nos municípios de Encruzilhada do Sul e São Gabriel as áreas de plantio convencional apresentou os maiores valores de respiração em relação às áreas nativas e plantio direto. Altas taxas de respiração podem indicar tanto um distúrbio ecológico causando um estresse na microbiota, como adição de grande quantidade de matéria orgânica prontamente disponível ao solo. Neste caso, as altas taxas indicam a possibilidade de maiores perdas de carbono do solo, promovidas pelo seu revolvimento recente e incorporação de resíduos, tendo como consequência uma degradação mais acelerada neste ambiente.

Com base nos resultados obtidos foi possível observar que a respiração microbiana não é um indicador adequado de qualidade do solo. Isso porque a alta atividade respiratória do solo observada em algumas situações não representa necessariamente uma condição de equilíbrio e auto-suficiência do solo em termos de ciclagem de nutrientes. Pelo contrário, em alguns casos, ela reflete circunstâncias que podem acarretar numa degradação deste solo.

5.3. Atividade enzimática

5.3.1. Atividade da β -glucosidase

Os valores de β -glucosidase apresentaram uma grande variação nos solos avaliados (Figuras 06 e 07).

Em Vacaria, foram observados os maiores valores da atividade dessa enzima, chegando a 370 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ na primeira amostragem no início do verão e a 220 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ na segunda amostragem no final do outono. Já os menores valores de atividade dessa enzima ocorreram em Morro Alto, sendo de 27 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ na primeira amostragem e 41 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ na segunda amostragem (Apêndice 13). Esses valores encontram-se dentro da faixa de variação

estabelecida por Dick et al. (1996), entre 38 e 720 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ para esta enzima.

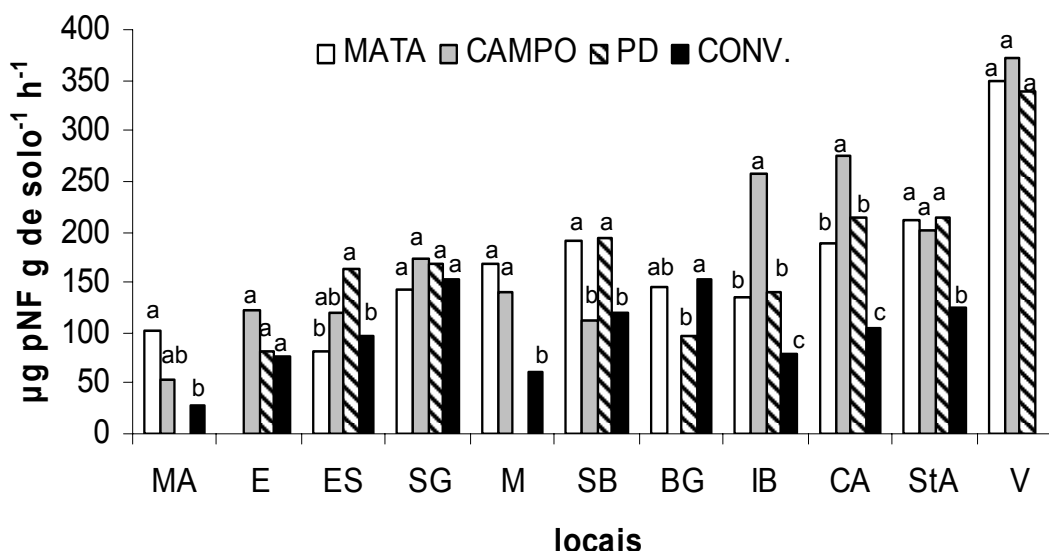


Figura 06: Valores de atividade da β -glucosidase em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

Com relação aos diferentes locais de amostragem, observou-se que quanto maior o teor de carbono no solo, maiores os valores da atividade da β -glucosidase, com um coeficiente de correlação (r) de 0,85 ($p < 0,01$) na primeira coleta e de 0,74 ($p < 0,01$) na segunda coleta.

Esse mesmo comportamento foi observado por diversos autores. Turner et al. (2002), trabalhando com solos com uma ampla diversidade de características químicas e físicas no Reino Unido, obtiveram um coeficiente de correlação (r) para estes dois atributos, de 0,77. Corroborando com estes resultados, Wang & Lu (2006), trabalhando com solos com teores de carbono orgânico entre 10 e 17 g kg^{-1} e pH entre 4,2 e 5,7 na China, também encontraram uma alta relação entre a atividade da β -glucosidase e o teor de

carbono orgânico destes solos ($r=0,87$), e a atividade desta enzima variou de 60 a 140 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$.

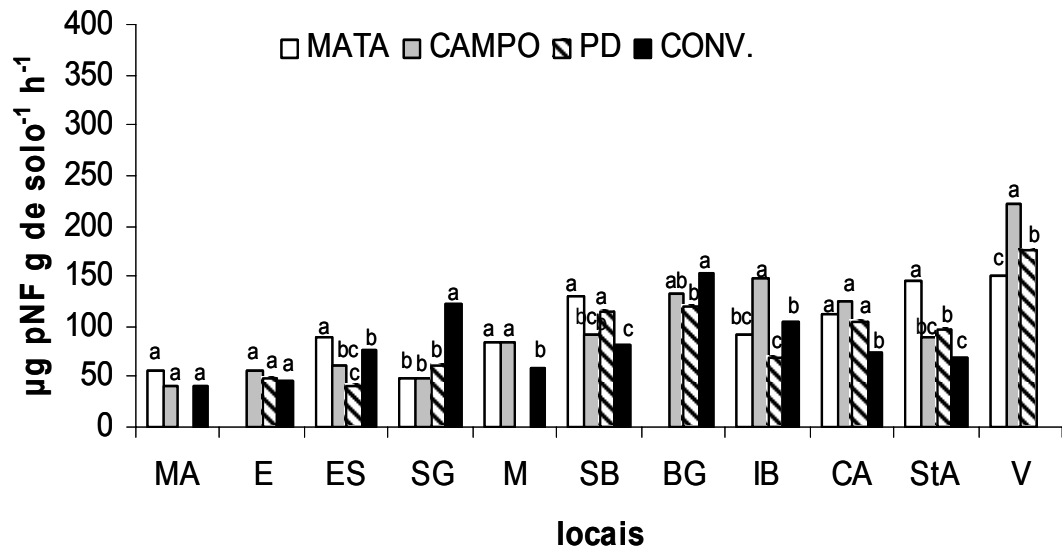


Figura 07: Valores de atividade da β -glucosidase em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

A matéria orgânica, além de influenciar diretamente na atividade da β -glucosidase no solo, por fornecer substrato para a sua ação, também protege e mantém as enzimas do solo em suas formas ativas. Essa proteção ocorre devido à formação de complexos enzimas-compostos húmicos (Deng & Tabatabai, 1997), deixando a β -glucosidase indisponível para a degradação e desnaturação pelas enzimas proteolíticas naturalmente presentes no solo.

Assim como a matéria orgânica, as argilas do solo também podem estabilizar as enzimas e manter sua atividade por longos períodos de tempo (Burns, 1982; Nannipieri et al., 1996; Allison, 2006). Segundo Turner et al.

(2002), esse mecanismo pode ser direto, ou indireto, seja adsorvendo em sua superfície as próprias enzimas, ou realizando uma proteção física à matéria orgânica, nutrientes e microrganismos do solo. No presente estudo não foi obtida uma correlação entre os teores de argila do solo e a atividade da β -glucosidase, mas Turner et al (2002) obtiveram uma correlação positiva ($r=0,64$) entre estes atributos.

Apesar da biomassa microbiana ser a responsável pela liberação das enzimas no solo, neste trabalho após a análise de correlação não foi observada uma correlação entre estes atributos. Böhme et al. (2005), em seus estudos na Alemanha, também não obtiveram uma correlação entre o CBM e a atividade da β -glucosidase. Estes autores justificam estes resultados devido ao fato desta enzima ocorrer no solo tanto na forma livre de enzima extracelular, como adsorvida na matéria orgânica e argilominerais do solo. Portanto um aumento na atividade da β -glucosidase não necessariamente coincide com o incremento da biomassa. Além disso, segundo Mac Donald (1986), apenas uma pequena parte da biomassa microbiana do solo, de 15 a 30%, apresenta atividade biológica, o restante apresenta-se de forma inativa ou latente.

Com relação ao tipo de cobertura do solo (Figura 06) observou-se na maioria dos locais avaliados não houve diferença estatística entre as áreas de vegetação nativa e as áreas cultivadas. Apenas em Ibirubá, Cruz Alta e Maquine as áreas nativas apresentaram valores superiores estatisticamente de atividade da β -glucosidase em relação às áreas cultivadas.

Os maiores valores observados em solos sob mata ocorrem devido ao maior aporte de resíduos nestes locais e também pela diversidade destes resíduos. Mas em quase metade destes locais (Encruzilhada do Sul, São Gabriel, Vacaria, Cruz Alta e Ibirubá) solos sob campo tenderam a apresentar uma maior atividade. Nestes casos outros fatores também devem estar influenciando, como o pH, por exemplo. Nestes locais os solos da mata apresentam um menor valor de pH quando comparados com os valores do campo. Além disso, a qualidade do resíduo adicionando ao solo influencia na atividade desta enzima. Resíduos mais lignificados tendem a ser de mais difícil

decomposição, reduzindo assim a quantidade de resíduos carbonados de fácil decomposição, que é o substrato da β -glucosidase.

Matsuoka (2006) também encontrou maiores valores de atividade da β -glucosidase em solos sob mata em seu estudo realizado em um Cambissolo Háplico, na serra gaúcha em áreas sob cultivo de videira. Já Schmitz (2003), trabalhando com um Argissolo encontrou valores de atividade desta enzima entre 47 e 200 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$, sendo a maior atividade em solo sob plantio direto e a menor em solo cultivado descoberto, com a vegetação nativa apresentando valores intermediários.

Dos oito locais que apresentavam sistemas de plantio convencional (PC) e direto (PD), cinco apresentaram diferença estatística entre os sistemas, com maiores valores de atividade da β -glucosidase em solos sob sistema de plantio direto, na coleta realizada entre os meses de novembro e dezembro. Em Cruz Alta e Santo Ângelo, o incremento da atividade da β -glucosidase no plantio direto em relação ao convencional chegou a quase 100% (Figura 06).

Vários são os trabalhos que apresentam resultados semelhantes. Mijangos et al. (2006), na Espanha, observaram uma redução de 30% na atividade da β -glucosidase em plantio convencional quando comparado ao plantio direto. Reis-Júnior & Mendes (2006), trabalhando com Latossolo do Cerrado brasileiro, observaram uma maior atividade da β -glucosidase em solos sob plantio direto, chegando a 350 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$, enquanto que no sistema de plantio convencional esses valores não passaram de 100 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$.

Segundo Melo et al. (2006), sistemas de uso da terra que propiciam maior diversidade e quantidade de resíduos orgânicos favorecem o desenvolvimento dos microrganismos e promovem aumento da atividade enzimática. Estudos realizados por Mijangos et al. (2006) na Espanha indicaram que solos que receberam adubação orgânica, ou seja, um maior aporte de resíduos orgânicos, apresentaram uma maior atividade da β -glucosidase quando comparados a solos que receberam adubação mineral.

Na segunda amostragem de solo (Figura 07), realizada entre maio e junho de 2006, foram encontrados menores valores na atividade da β -glucosidase. Em São Gabriel, essa redução chegou a 70%, mas no geral os valores foram 50% menores. Segundo Bandick & Dick (1999) a atividade desta enzima é relativamente estável entre as estações do ano. Mas no caso deste estudo a diminuição nas temperaturas médias no período pode ter diminuído a atividade microbiana. (Apêndices 2 e 3). Um indicativo desta influencia da temperatura é a baixa atividade respiratória nos solos coletados entre maio e junho de 2006 em relação à atividade respiratória do período mais quente (Apêndice12). Além disso, uma alteração na qualidade e diminuição na disponibilidade de resíduos no solo neste período também pode ter afetado negativamente a atividade da β -glucosidase.

A tendência no comportamento desta enzima nas amostras coletadas entre maio e junho de 2006 manteve-se a mesma da primeira amostragem com relação às diferenças entre os locais. Apesar de, na maioria dos locais, as áreas de vegetação nativa continuarem apresentando valores superiores de atividade enzimática em relação às áreas cultivadas, nesta época de amostragem não houve diferença estatística entre as coberturas em alguns locais. A maior atividade da β -glucosidase em sistema de plantio convencional em São Gabriel em relação às áreas nativas e plantio direto neste período confirma que a incorporação de resíduos orgânicos ao solo acelerou a decomposição destes resíduos, resultando em aumento do carbono da biomassa (Figura 03) e respiração microbiana (Figura 05).

Neste estudo, a atividade da β -glucosidase foi sensível para diferenciar os sistemas de manejo avaliados. Diferentemente de Reis-Júnior e Mendes (2006), trabalhando em áreas de clima tropical, que concluíram que as enzimas fosfatase ácida e arilsulfatase foram mais sensíveis do que a β -glucosidase para detectar diferenças entre áreas de plantio direto e plantio convencional.

5.3.2. Atividade da fosfatase ácida

Para os valores da atividade da fosfatase ácida também foi observada a mesma tendência que para a β -glucosidase. Há uma grande variação entre os locais de amostragem e também entre as épocas de coleta, sendo as amostras coletadas no período mais frio (maio e junho de 2006) as que apresentaram menor atividade.

Na coleta realizada entre novembro e dezembro de 2005 os valores variaram de 117 a 1587 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$. A menor atividade desta enzima foi observada em Morro Alto, sob sistema convencional de cultivo de abacaxi, e a maior atividade em Vacaria, em solo sob mata nativa (Figura 08 e apêndice 14).

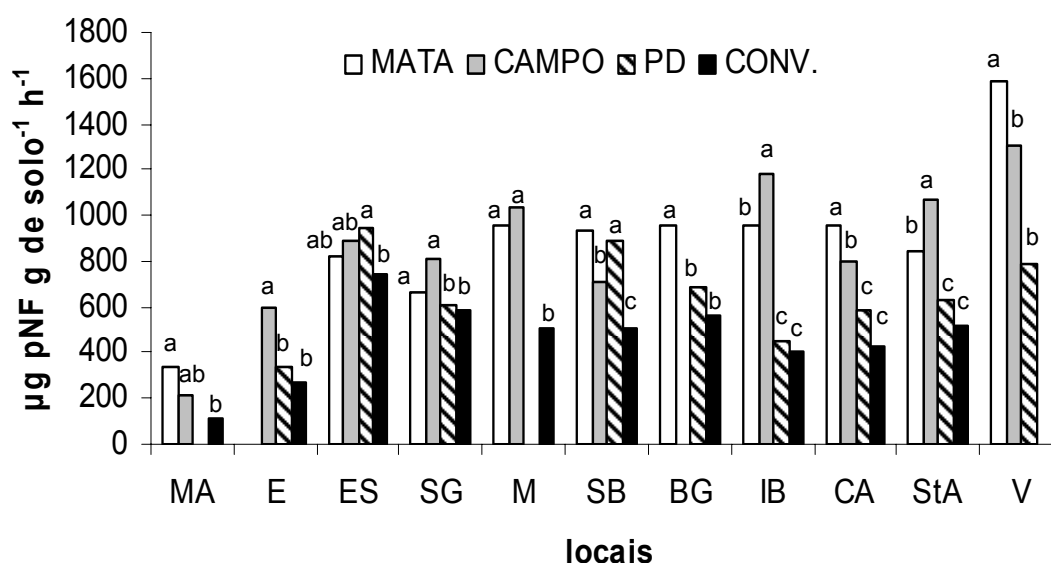


Figura 08: Valores de atividade da fosfatase ácida em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

Nas amostras coletadas entre maio e junho de 2006, foi observada uma variação menor na atividade da fosfatase ácida com valores de 131 a 1011 $\mu\text{g pNF g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$, em Morro Alto e Bento Gonçalves, respectivamente (Figura 09 e apêndice 14).

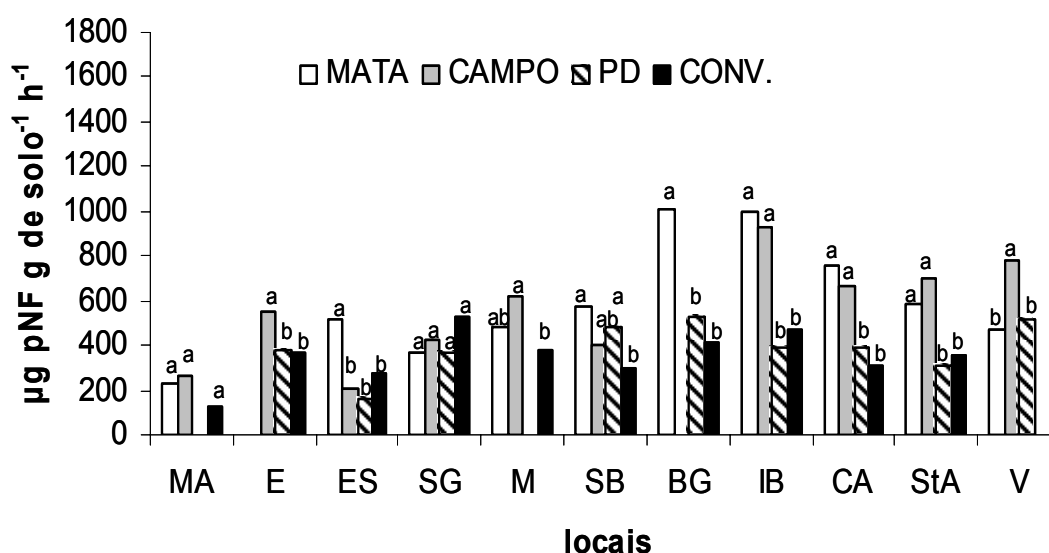


Figura 09: Valores de atividade da fosfatase ácida em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

Os menores valores observados em todos locais de coleta na segunda amostragem devem-se às menores temperaturas observadas nesse período (Apêndice 2 e 3). A atividade microbiana tende a diminuir em períodos com temperaturas mais amenas, e aumentar quando as temperaturas são mais elevadas. Segundo Sinsabaugh et al. (1992), a atividade da fosfatase ácida é influenciada principalmente pelas características químicas do solo e condições climáticas do local.

Em Vacaria, observou-se um maior efeito da sazonalidade sobre esta enzima, sendo os valores de atividade reduzidos em até 70% no período entre

maio e junho. Neste local, as temperaturas registradas neste período são bastante baixas (Apêndice 02), inibindo a atividade dos microrganismos.

Segundo Dick et al. (1988), a matéria orgânica influencia na atividade desta enzima, uma vez que apresenta efeitos benéficos sobre a comunidade microbiana, além de proteger fisicamente e manter as enzimas na sua forma ativa no solo. Deng & Tabatabai (1997) encontraram uma correlação entre a atividade da fosfatase ácida e o teor de carbono orgânico do solo. Balota et al. (2004) encontraram uma correlação positiva ($r=0,81$) entre o teor de carbono orgânico do solo e a atividade desta enzima. No presente estudo também foi observada esta tendência, apresentando uma correlação positiva ($r=0,83$, $p<0.01$) na primeira amostragem entre o carbono orgânico e a atividade da fosfatase ácida.

Neste estudo, não foi observada uma correlação significativa entre o pH do solo e a atividade da fosfatase ácida. Deng & Tabatabai (1997) também não encontraram correlação entre esta enzima e o pH, mas sabe-se que a maior atividade dessa enzima se expressa com pH do solo em torno de 5,0, e que a atividade da fosfatase ácida tende a diminuir com o aumento do pH para valores acima de 7,0.

Ao contrário de Gianfreda et al. (2005), que avaliaram a atividade enzimática em solos da Itália, não houve uma correlação significativa entre as concentrações de fósforo disponível no solo e a atividade da fosfatase ácida no presente estudo. Balota et al. (2004) também não observaram uma correlação entre os teores de fósforo do solo e a atividade da fosfatase ácida.

De modo geral, as áreas sob vegetação nativa apresentaram uma maior atividade desta enzima, e as áreas cultivadas, os menores valores. E dentro das áreas cultivadas, os solos sob sistema de plantio direto ou aqueles com um maior aporte de resíduos, como em Bento Gonçalves, foram os que apresentaram a maior atividade da fosfatase ácida.

A maior atividade da fosfatase ácida em áreas de vegetação nativa também foi observada por diversos autores. Reis-Júnior e Mendes (2006) estudando solos do Cerrado brasileiro encontraram reduções significativas na

atividade desta enzima nas áreas cultivadas em relação às áreas ainda sob vegetação nativa, sendo registrados valores de $1400 \mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ e de, no máximo, $1200 \mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ em áreas sob plantio direto.

Conte et al. (2002), avaliando um Latossolo Vermelho no Rio Grande do Sul, observaram uma redução de quase 60% nos valores de atividade da fosfatase ácida nos solos cultivados quando comparados ao da mata nativa. Ainda no Estado, só que avaliando um Cambissolo com cultivo de videira na Serra Gaúcha, Matsuoka (2006) observou uma redução de quase 50% na atividade desta enzima na área cultivada em relação à vegetação nativa (mata).

Com relação às áreas cultivadas, não houve diferença estatística entre os sistemas de preparo de solo. Em apenas dois locais os sistemas de preparo diferiram estatisticamente, em Encruzilhada e São Borja. Mesmo não havendo diferença significativa entre os sistemas, nas áreas de PD ou sistemas com maior aporte de resíduos e sem revolvimento do solo, os valores da atividade da fosfatase ácida tenderam a ser superiores em relação ao plantio convencional.

Balota et al (2004), em estudos realizados em um Latossolo no Estado do Paraná, relataram uma maior atividade da fosfatase ácida nos sistemas de plantio direto em relação ao plantio convencional, independente do tipo de cultura utilizada. Os valores de atividade desta enzima variaram de 458 a $625 \mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ no PC e de 633 a $852 \mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ no PD. Schmitz (2003), trabalhando com um Argissolo sob plantio direto no Rio Grande do Sul, encontrou valores de atividade da fosfatase ácida variando de 249 a $1078 \mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$, com menores valores em solos cultivados mantidos descobertos, e maiores valores em campo nativo, sendo no plantio direto encontrados os valores intermediários.

Segundo Reis-Júnior e Mendes (2006), a maior atividade da fosfatase ácida no plantio direto comparada ao plantio convencional está relacionada à manutenção da cobertura vegetal e à ausência de revolvimento do solo. Estas práticas favorecem a formação de agregados e, conseqüentemente, a proteção da matéria orgânica do solo, e esta influencia

diretamente a atividade da fosfatase ácida. Além disso, a aplicação localizada de fertilizante fosfatado no PD faz com este não fique distribuído uniformemente no solo, ocorrendo então zonas de baixa concentração no íon fosfato, estimulando a atividade das fosfatases nestes locais.

5.3.3. Atividade da urease

Os valores obtidos para atividade da urease foram bastante variáveis, tanto entre os locais estudados como também entre as épocas de amostragem (Figuras 10 e 11). Foi observado ainda que, na primeira coleta de solo realizada entre novembro e dezembro de 2005, as diferenças entre os valores foram maiores entre os solos sob vegetação nativa e os solos cultivados do que as verificadas na segunda coleta, realizada entre maio e junho de 2006.

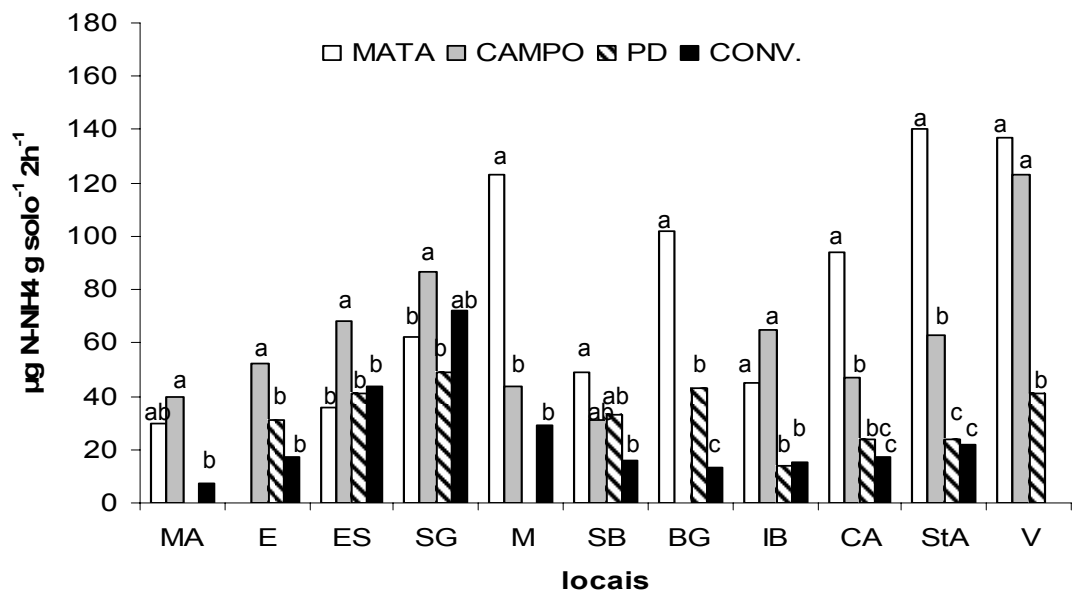


Figura 10: Valores de atividade da urease em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

Os valores de atividade da urease variaram de 7 a 140 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1}$ solo 2h^{-1} na coleta realizada entre novembro e dezembro de 2005 e entre 10 e 169 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1}$ solo 2h^{-1} nas amostras coletadas entre maio e junho de 2006 (Apêndice 15). Em alguns locais, como Morro Alto, São Borja e Santo Ângelo, praticamente não houve variação na atividade da urease entre as épocas de amostragem.

Estes resultados encontram-se dentro dos valores observados na literatura. Bandick e Dick (1999), estudando o efeito de fertilizantes e rotação de culturas sobre a atividade enzimática do solo nos Estados Unidos, encontraram valores de atividade da urease entre 40 e 270 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1}$ solo 2h^{-1} . Klose e Tabatabai (1999) trabalhando com solos com grande variação nas características químicas e físicas encontraram valores de atividade entre 23 e 146 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1}$ solo 2h^{-1} .

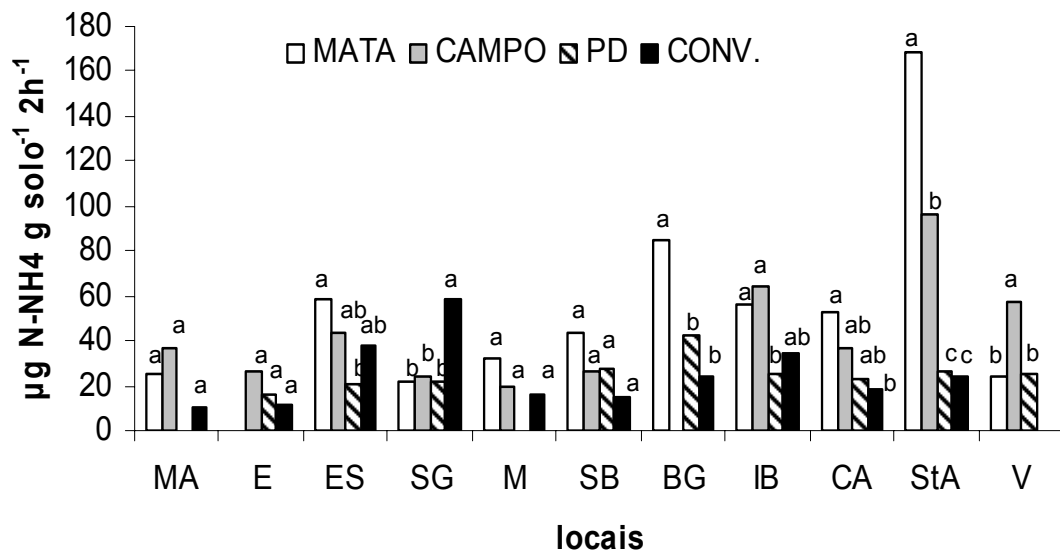


Figura 11: Valores de atividade da urease em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

No Rio Grande do Sul (RS), Schmitz (2003), em Argissolo sob diferentes coberturas vegetais e práticas de manejo, obteve valores de atividade para esta enzima entre 32 e 164 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo } 2\text{h}^{-1}$. Ainda no RS Matsuoka (2006), trabalhando em solos sob cultivo de videira, encontrou valores de 50 a 130 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo } 2\text{h}^{-1}$ em um Cambissolo e de 10 a 141 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo } 2\text{h}^{-1}$ em um Neossolo. Cabe salientar ainda que os dois autores encontraram maiores atividades da urease nas áreas sob vegetação nativa quando comparadas às áreas cultivadas.

As diferenças de atividade da urease entre os locais avaliados se devem principalmente às diferenças nos teores de carbono orgânico entre estes solos. Seguindo a tendência verificada para β -glucosidase e fosfatase ácida, a atividade da urease também apresentou uma correlação positiva com o teor de carbono do solo ($r=0,70$, $p<0,01$). Este resultado indica que a matéria orgânica, além de servir de substrato para a microbiota, pode estar protegendo esta enzima contra a ação de enzimas proteolíticas naturalmente presente no solo, mantendo o potencial de atividade da urease por maiores períodos de tempo. Zornoza et al. (2006), trabalhando com solos da região do Mediterrâneo na Espanha, também obtiveram uma correlação positiva entre a atividade da urease e o teor de carbono orgânico do solo ($r=0,64$).

Não foi observada uma correlação significativa entre a atividade da urease e o carbono da biomassa microbiana, ao contrário de Klose & Tabatabai (1998) que, avaliando solos com diferentes características químicas e físicas, encontraram uma alta correlação positiva ($r=0,84$) entre esta enzima e o carbono da biomassa microbiana.

Em praticamente todos locais avaliados, com exceção de São Borja e São Gabriel, entre novembro e dezembro de 2005 (Figura 10) os solos sob mata ou campo nativo apresentaram os maiores valores de atividade da urease, diferindo estatisticamente dos solos cultivados. A atividade desta enzima foi em média 75% menor nas áreas cultivadas em relação às áreas nativas, chegando a ser 87% menor em Bento Gonçalves.

Matsuoka (2006), na Serra Gaúcha, também observou uma maior atividade da urease nas áreas nativas em relação às áreas cultivadas com

videira, com valores até 60% maiores em Cambissolo Húmico sob mata, e 70% maiores na mata nativa em relação à área cultivada de um Neossolo Litólico.

Nas áreas de vegetação nativa há uma maior quantidade de espécies vegetais, e conseqüentemente um maior sistema radicular quando comparado às áreas agrícolas, o que aumenta a rizosfera, estimulando a atividade dos microrganismos nestes locais. Além disso, há um constante aporte de resíduos orgânicos e uma maior variedade de espécies vegetais em relação às áreas cultivadas. Esta diferença entre as áreas também pode estar relacionada a mudanças qualitativas na composição das comunidades microbianas presentes nestes locais.

Nos solos cultivados na maioria dos locais, e nas duas épocas de amostragem (Figuras 10 e 11), não houve diferença estatística entre as áreas sob plantio direto e as áreas sob plantio convencional. Mas, no geral, aqueles sob sistemas de cultivo de plantio direto apresentaram maiores valores quando comparados ao sistema convencional.

Uma maior atividade da urease em sistemas de plantio direto também foi observada por Roldán et al. (2005) no México. Estes autores obtiveram valores de atividade da urease duas vezes maiores nas áreas de plantio direto em relação às áreas de plantio convencional.

No Rio Grande do Sul, Schmitz (2003) observou em seu estudo em um Argissolo que, quanto mais complexo o sistema de manejo, maior a atividade da urease, obtendo em solo descoberto valores de atividade desta enzima de $47 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo } 2\text{h}^{-1}$, $90 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo } 2\text{h}^{-1}$ em sistema de plantio direto e chegando a $164 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo } 2\text{h}^{-1}$ em campo nativo.

5.3.4. Hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA)

Ao contrário do que foi observado na atividade das outras enzimas avaliadas, a hidrólise de FDA foi bastante uniforme nos solos estudados. Na maioria dos locais, não houve diferença estatística entre as áreas de vegetação nativa e as cultivadas (Figuras 12 e 13).

Os valores de hidrólise de FDA variaram de 259 a 972 mg F g solo seco⁻¹ dia⁻¹ na primeira amostragem, e de 201 a 1072 mg F g solo seco⁻¹ dia⁻¹, na segunda amostragem de solo (Apêndice 16). A menor atividade entre novembro e dezembro de 2005 foi observada em Maquiné, em solo sob cultivo convencional de feijão, e a maior atividade, em Vacaria, em solo sob plantio direto. Já entre maio e junho de 2006, o maior valor de hidrólise de FDA ocorreu em Vacaria, em solo sob campo, e o menor em Morro Alto, em solo sob plantio convencional.

Na maioria dos locais avaliados, não houve diferença significativa entre a vegetação nativa e os solos cultivados nas duas épocas de amostragens (Figuras 12 e 13), com exceção de Morro Alto, Maquiné e Ibirubá.

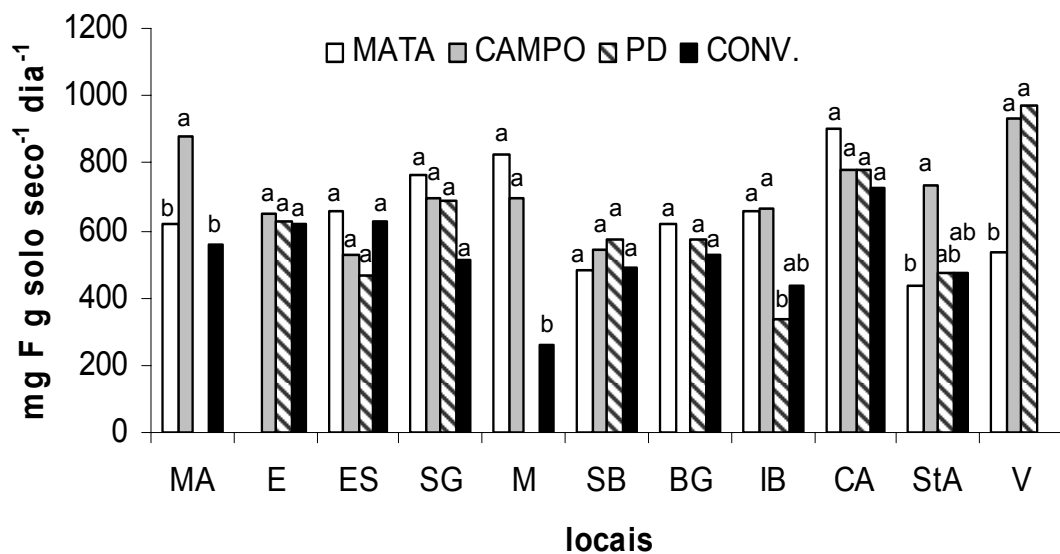


Figura 12: Valores de hidrólise do diacetato de fluoresceína em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre novembro e dezembro de 2005, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

Após análise de correlação, não foi observada uma relação entre a hidrólise de FDA e outros atributos do solo, como carbono orgânico, argila e carbono da biomassa microbiana.

Bandick & Dick (1999), nos Estados Unidos, observaram um incremento de 40% na hidrólise de FDA em áreas que receberam aplicação de dejetos suínos quando comparadas a áreas que receberam resíduos vegetais.

Na literatura não existem muitos trabalhos com dados de hidrólise de FDA no solo, e os resultados obtidos são bastante variáveis. Além disso, não há uma uniformidade nas unidades de apresentação dos resultados.

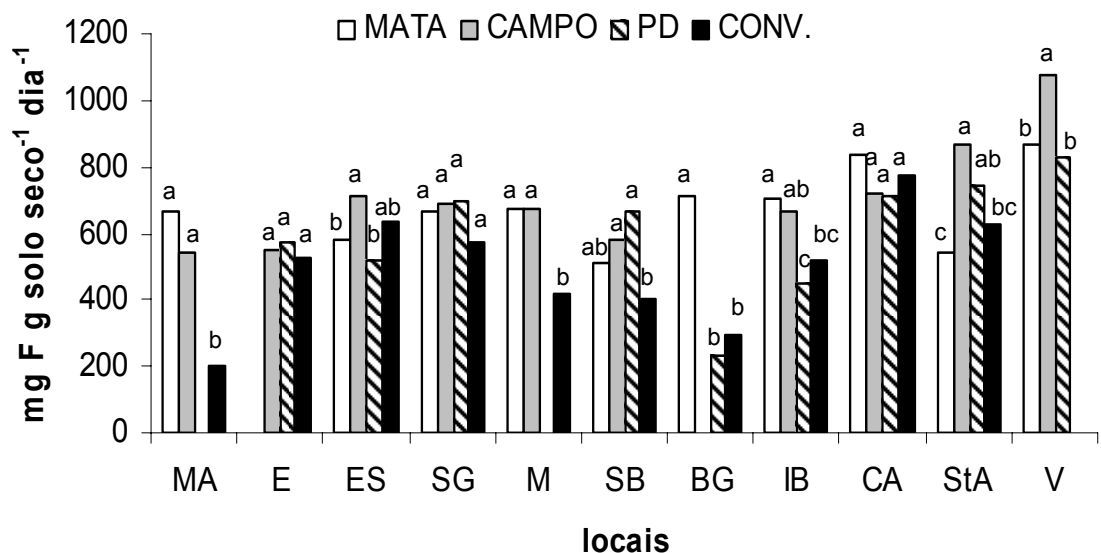


Figura 13: Valores de hidrólise do diacetato de fluoresceína em amostras de solo de onze localidades do Rio Grande do Sul, entre maio e junho de 2006, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, na profundidade de 0 a 20 cm. (PD= plantio direto; CONV= sistema convencional; MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria). Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

Nas condições que foi realizado este estudo, a hidrólise de FDA não foi sensível para avaliar diferenças entre os solos avaliados, uma vez que grande parte das áreas nativas e cultivadas não diferiram estatisticamente, assim como não foi possível diferenciar os sistemas de manejos avaliados.

5.4. Atividades enzimáticas como indicadores de qualidade biológica do solo

Os resultados deste trabalho indicam que as atividades enzimáticas são indicadores adequados da qualidade biológica do solo. Ao contrário de outros indicadores de atividade, como a respiração microbiana, estes atributos são suficientemente sensíveis para detectar mudanças resultantes do manejo do solo, não sofrendo influência expressiva de distúrbios momentâneos.

O uso da respiração microbiana como indicador de qualidade biológica apresenta algumas limitações, já que mínimos distúrbios costumam influenciar na atividade respiratória do solo, não indicando necessariamente que este comportamento da microbiota irá perdurar.

Neste trabalho, a β -glucosidase foi a enzima que mais detectou diferenças entre os sistemas de manejo de solo, seguida da fosfatase ácida e urease, que, em menor grau, também detectaram estas diferenças. Já a hidrólise de FDA não diferiu estatisticamente entre as áreas de vegetação nativa e áreas cultivadas, nem entre os sistemas de manejo na maioria dos locais. Os resultados do presente trabalho indicam que avaliações de amplo espectro são pouco úteis para avaliar estas alterações.

É importante ressaltar que, para a compreensão dos processos e o funcionamento do solo, a avaliação dos resultados de atividades de diferentes enzimas deve ser feita em conjunto. Isso porque cada enzima avaliada neste estudo é relacionada a um ciclo biogeoquímico, com a β -glucosidase participando do ciclo do carbono, a fosfatase ácida do ciclo do fósforo e urease do ciclo do nitrogênio.

Os resultados aqui apresentados demonstram a importância de se realizar estudos em cada região para determinar quais atributos refletem melhor as condições dos solos daquele local e quais características que mais influenciam a atividade enzimática. No caso deste estudo a alta correlação positiva das enzimas β -glucosidase, fosfatase ácida e urease com o teor de

carbono orgânico do solo demonstraram que este atributo afeta diretamente a atividade enzimática nos solos do Rio Grande do Sul.

As diferenças de atividade enzimática verificadas para os diferentes locais avaliados não quer dizer que naqueles locais onde ela é mais alta o solo apresenta maior qualidade. É necessário considerar a potencialidade de cada solo, por isso a importância da avaliação concomitante da vegetação nativa.

Em vista do apresentado a atividade enzimática possui potencialidade para o entendimento da qualidade dos solos do Rio Grande do Sul em função do uso e manejo. Porém para estabelecer parâmetros ainda são necessários estudos que ajudem a compreender o comportamento da atividade enzimática ao longo do tempo e confirmar a permanência da influência dos atributos que determinam essa atividade nos solos avaliados.

6. CONCLUSÕES

A atividade das enzimas β -glucosidase, fosfatase ácida e urease é um indicador sensível que pode ser utilizado no monitoramento de alterações devido ao uso agrícola do solo e manejo empregado em diferentes tipos de solo do Rio Grande do Sul.

O teor de carbono orgânico do solo influencia diretamente na atividade da β -glucosidase, fosfatase ácida e urease.

O carbono da biomassa microbiana, a respiração microbiana e a hidrólise do diacetato de fluoresceína não foram suficientemente sensíveis às alterações ocorridas em função do manejo e dos diferentes tipos de solos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAM, G; DUNCAN, H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 943-951, 2001.
- ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry.**, London: Academic Press, 1995.
- ALLISON, S.D. Soil minerals and humic acids alter enzyme stability: implications for ecosystem processes. **Biogeochemistry**, Netherlands, v.81, p.361-373, 2006.
- AMADOR, J.A.; GLUCKSMAN, A.M.; LYONS, J.B.; GORRES, J.H. Spatial distribution of soil phosphatase activity within a riparian forest. **Soil Science**, Baltimore, v.162, p.808-825, 1997.
- ANDERSON, J.P.E. Soil respiration. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (eds.). **Method of analysis**. 2ed. part 2. Madison: American Society of Agronomy: Soil Science Society of America, 1982. p.831-871.
- ANGERS, D.A.; BISSONNETTE, N.; LÉGÈRE, A.; SAMSON, N. Microbial and biochemical changes induced by rotation and tillage in a soil under barley production. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 73, n. 1, p.39-50. 1993.
- BANDICK, A.K.; DICK, R.P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.31, p.1471-1479, 1999.
- BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, p.641-649, 1998.
- BALOTA, E.L.; KANASHIRO, M. ;COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; DICK, R.P. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.35, p.300-306, 2004.

- BARETTA, D.; SANTOS, J.C.P.; FIGUEIREDO, S.R.; KLAUBERG-FILHO, O. Efeito do monocultivo de Pinus e da queima do campo nativo em atributos biológicos do solo no Planalto Sul Catarinense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, p. 715-724, 2005.
- BERGSTROM, D. W.; MONREAL, C.M.; KING, D.J. Sensitivity of soil enzyme activities to conservative practices. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.62, p.1286-1294, 1998.
- BÖHME, L.; LANGER, U.; BÖHME, F. Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiments. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Charlottetown, v.109, p.141-152, 2005.
- BURNS, R.G. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.14, p.423-427, 1982.
- BUSTO, M.D.; PEREZ-MATEOS, M. Extraction of humic-b-glucosidase fractions from soil. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v.20, p.77-82, 1995.
- BUSTO, M.D.; PEREZ-MATEOS, M., Characterization of b-D-glucosidase extracted from soil fractions. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v.51, p.193-200, 2000.
- CARNEIRO, M.A.C. **Características bioquímicas do solo em duas cronseqüências de reabilitação em áreas de mineração de bauxita**. 2000. 166f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.
- CARTER, M.R. Microbial biomass as an index for tillage-induced changes in soil biological properties. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v.7, p.29-40, 1986.
- CONTE, E.; ANGHINONI, I.; RHEINHEIMER, D.S. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatase ácida após aplicação de fosfato em solo no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, n. 4, p.925-930, 2002.
- DENG, S.P.; TABATABAI, M.A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III. Phosphatases and arylsulfatase. **Biology and Fertility Soils**, Heidelberg, v.24, p.141-146, 1997.
- DEXTER, A.R. Soil physical quality Part I. Theory, effects of soil texture, density, and organic matter, and effects on root growth. **Geoderma**, Amsterdam, v.120 p.201-214, 2004
- DICK, R.P.; RASMUNSEN, P.E.; KERLE, E.A. Influence of long-term residue management on soil enzyme activities in relation to soil chemical properties of a wheat-fallow system. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v.24, n.1, p.159-164, 1988.

- DICK, W.A.; TABATABAI, M.A. Significance and potential uses of soil enzymes. In: METTING, F.B. (ed.) **Soil Microbial Ecology**. New York: Marcel Dekker, 1992. p.95-127.
- DICK, R.P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J.W. et al. (eds.) **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: SSSA and ASA, 1994. p.107-124. (SSSA Spec. Publ., 35.)
- DICK, R.P.; BREACKWELL, D.P.; TURCO, R.F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (eds.) **Methods for assessing soil quality**. Madison: SSSA, 1996. p.247-271.
- DORAN, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.44, n. 4, p.765-771, 1980.
- DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W. et al. (eds.) **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: SSSA and ASA, 1994. p.3-21. (SSSA Spec. Publ., 35.)
- DORAN, J.W.; SARRANTONIO, M.; JAURE, R. Strategies to promote soil quality and health. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R.; GRACE, P.R. (eds.) **Soil biota: management in sustainable farming systems**. Melbourne: CSIRO, 1994. p.230-237.
- EKENLER, M.; TABATABAI, M.A. Tillage and residue management effects on β -glucosaminidase activity in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.35, p.871-874, 2003.
- ELLIOTT, E.T.; Defining and assessing soils health and sustainable productivity, In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R.; GRACE, P.R. (eds.) **Soil Biota: management in sustainable farming systems**. Melbourne: CSIRO, 1994. p. 250–256.
- FEIGL, B.J.; SPARLING, G.P.; ROSS, D.J. Soil microbial in Amazonian soils: evaluation of methods and estimates of pool sizes. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.27, n.11, p.1467-1472, 1995.
- FENNER, N.; FREEMAN, C. REYNOLDS, B. Observations of a seasonally shifting thermal optimum in peatland carbon-cycling processes; implications for the global carbon cycle and soil enzyme methodologies. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.37, p.1814-1821, 2005.
- FOLLET, R.F.; SCHIMEL, D.S. Effect of tillage practices on microbial biomass dynamics. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.53, p.1091-1096, 1989.
- GARCÍA, C.; ROLDAN, A.; HERNÁNDEZ, T. Changes in microbial activity after abandonment of cultivation in a semiarid mediterranean environment. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 26, p.285-291, 1997.

- GARCIA, C.; HERNANDEZ, T.; ROLDAN, A.; MARTIN, A. Effect of plant cover decline on chemical and microbiological parameters under Mediterranean climate. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.34, p.635-642, 2002.
- GIANFREDA, L.; DECRISTOFARO, A.; RAO, M.A.; VIOLANTE, A. Kinetic behavior of synthetic organo- and organo-mineral-urease complexes. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.59, p.811–815, 1995.
- GIANFREDA, L.; RAO, M.A.; PIOTROWSKA, A.; PALUMBO, G.; COLOMBO, C. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.341, p.265-279, 2005.
- GUPTA, V.V.S.R.; GERMIDA, J.J. Distribution of microbial biomass and its activity in different soil aggregate size classes as affected by cultivation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 20, n. 6, p.777-786, 1988.
- HORWATH, W.R.; PAUL, E.A.; HARRIS, D.; NORTON, J.; JAGGER, L.; HORTON, K.A. Defining a realistic control for the chloroform fumigation-incubation method using microscopic counting and ¹⁴C-substrates. **Canadian journal of soil science**, Ottawa, v.76, p.459-467, 1996.
- INSAM, H. Are the soil microbial biomass and basal respiration governed by the climatic regime? **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, n.4, p.525-532, 1990.
- JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil - I. Fumigation with chloroform. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.8, n. 3, p.167-177, 1976.
- JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S.; WEDDERBURN, R.W.M. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil – III. The relationships between soil biovolume measured by optical microscopy and the flush of decomposition caused by fumigation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.8, p.189-202, 1976.
- JENKINSON, D.S.; LADD, J.N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N. (eds.) **Soil Biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1981. v.5, p.415-471.
- JORDAN, D.; KREMER, R.J.; BERGFELD, W.A.; KIM, K.Y.; CACNIO, V.N. Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v.19, p.297-302, 1995.
- KANDELER, E.; TSCHERKO, D.; SPIEGEL, H. Long-term monitoring of microbial biomass, N mineralisation and enzyme activities of a Chernozem under different tillage management. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v.28, p.343-351, 1999.

- KENNEDY, A.C.; PAPENDICK, R.I. Microbial characteristics of soil quality. **Journal of Soil and Water Conservation**, Ankeny, v.50, n3. p.243-248, 1995.
- KLOSE, S.; TABATABAI, M.A. Urease activity of microbial biomass in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, p.205-211, 1999.
- KNIGHT, T.R.; DICK, R.P. Differentiating microbial and stabilized β -glucosidase activity relative to soil quality. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 36, p.2089-2096, 2004.
- KOERSELMAN, W.; VAN KERKHOVEN, M.B.; VERHOEVEN, J.T.A. Release of inorganic N, P and K in peat soils; effects of temperature, water chemistry and water level. **Biogeochemistry**, Netherlands, v.20, p.63-81, 1993.
- KRAMER, D.N.; GUILBAULT, G.G., A substrate for the fluorimetric determination of lipase activity. **Analytical Chemistry**, Columbus, v.35, p.588-589, 1963.
- LEIRÓS, M.C.; TRASAR-CEPEDA, C.; SEOANE, S.; GIL-SOTRES, F. Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in area of the European temperate-humic zone (Galicia, NW Spain): general parameters. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, p.733-745, 2000.
- MaC DONALD, R.M. Extraction of microorganisms from soil. **Biological Agriculture and Horticulture**, Oxon, v.3, p.361-365, 1986.
- MASTO, R.E.; CHHONKAR, P.K.; SINGH, D.; PATRA, A.K. Changes in soil biological biochemical characteristics in a long-term field trial on a subtropical inceptisol. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.38, p.1577-1582, 2006.
- 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.
- MATSUOKA, M. **Atributos biológicos de solos cultivados com videira na região da Serra Gaúcha**. 2006. 171f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.
- MELO, V.S.; ROULAND, C.; DESJARDINS, T.; SARRAZIN, M.; SILVA JÚNIOR, M. L.; SANTOS, M.M.L.S.; FERREIRA, W.C.; SANTOS, E.R.; ARAUJO, R.C. de M.; RUIVO, M.L.P. Atividade enzimática de Latossolo Amarelo na Amazônia oriental, sob diferentes tipos de cobertura vegetal. In: FERTBIO, 2006, Bonito, MS. **Resumos Expandidos**. Bonito: SBCS, 2006. CDROM.

- MENDES, I.C.; VIVALDI, L.A. Dinâmica da biomassa e atividade microbiana em uma área sob Mata de Galeria na região do Distrito Federal. In: RIBEIRO, J.F.; FONSECA, C.L.; SOUZA-SILVA, J.C. (eds.). Cerrado: caracterização e recuperação de matas de galeria. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001.
- MENDES, I.C.; SOUZA, L.V.; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C. Propriedades biológicas em agregados de um Latossolo Vermelho-Escuro sob plantio convencional e direto no Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, p.435-443, 2003.
- MIJANGOS, I.; PÉREZ, R.; ALBIZU, I.; GARBISU, C. Effects of fertilization and tillage on soil biological parameters. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v.40, p.100-106, 2006.
- MONREAL, C.M.; BERGSTROM, D.W. Soil enzymatic factors expressing the influence of land use, tillage system and texture on soil biochemical quality. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.80, p.419-428, 2000.
- MOORE, T.R.; DALVA, M. The influence of temperature and water table position on methane and carbon dioxide emissions from laboratory columns of peatland soils. **Journal of Soil Science**, Oxford, v.44, p.651-664, 1993.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. atual. e ampl. – Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.
- NANNIPIERI, P.; SEQUI, P.; FUSI, P. Humus and enzyme activity. In: PICCOLO, A. (Ed.), **Humic Substances in Terrestrial Ecosystems**. New York: Elsevier, 1996. p. 293-328.
- PASCUAL, J.A.; GARCIA, C.; HERNANDEZ, T.; MORENO, J.L.; ROS, M. Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, p.1877-1883, 2000.
- PAULA, A.M.; LAMMEL, D.R.; BARTH, G.; CARDOSO, E.J.B.N. Atividade enzimática no solo em áreas de café sob diferentes manejos. In: FERTBIO, 2006, Bonito, MS. **Resumos Expandidos**. Bonito: SBCS, 2006. CDROM.
- PETTERMANN, P.C.; de PAULA, A.M.; CARDOSO, E.J.B.N.; da FONSECA, A.F. Biomassa e atividade microbiana em solo sob pastagem irrigada com efluente de lagoas de estabilização. In: FERTBIO, 2006, Bonito, MS. **Resumos Expandidos**. Bonito: SBCS, 2006. CDROM.
- RAO, M.A.; VIOLANTE, A.; GIANFREDA, L. Interaction of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.32, p.1007-1014, 2000.
- REIS-JÚNIOR, F.B.; MENDES, I.C. Uso de parâmetros microbiológicos como indicadores para avaliar a qualidade do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas. In: FERTBIO, 2006, Bonito, MS. **Resumos Expandidos**. Bonito: SBCS, 2006. CDROM.

- RIBEIRO, G.H.S.; REIS-JÚNIOR, F.B.; ROLIM, L.; MENDES, I.C. Atividade enzimática e diversidade metabólica em solos sob cultivo orgânico e convencional. In: FERTBIO, 2006, Bonito, MS. **Resumos Expandidos**. Bonito: SBCS, 2006. CDROM.
- ROLDÁN, A.; SALINAS-GARCÍA, J.R.; ALGUACIL, M.M.; DÍAZ, E.; CARAVACA, F. Soil enzyme activities suggest advantages of conservation tillage practices in sorghum cultivation under subtropical conditions. **Geoderma**, Amsterdam, v.129, p.178-185, 2005.
- SANTANA, D.P.; BAHIA FILHO, A.F.C. Indicadores de qualidade do solo. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 27, 1999, Brasília. **Resumos Expandidos**. Rio de Janeiro: SBCS, 1999. CDROM
- SCHMITZ, J.A.K. **Indicadores biológicos de qualidade do solo**. 2003. 234f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.
- SINSABAUGH, R.L.; ANTIBUS, R.K.; LINKINS, A.E.; RAYBURN, L.; REPERT, D.; WEILAND, T. Wood decomposition in a first order watershed: mass loss as a function of exoenzyme activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.24, p.743–749, 1992.
- SINSABAUGH, R.L.; ANTIBUS, R.K.; LINKINS, A.E.; MCCLAUGHERTY, C.A.; RAYBURN, L.; WEILAND, T. Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity. **Ecology**, Ithaca, v.74, p.1586–1593, 1993.
- SMITH, J.L.; PAUL, E.A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. (eds.) **Soil Biochemistry**, New York, v.6, p.357-396, 1990.
- STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbial indicators. **Soil and Plant Science**, Copenhagen, v.49, n.1, p.1-24, 1999.
- SWISHER, R.; CARROLL, G.C. Fluorescein diacetate hydrolysis as an estimator of microbial biomass on coniferous needle surfaces. **Microbial Ecology**, Ottawa, v.6, p.217-226, 1980.
- TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (Eds.) **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: ASA, 1982. p.903-943. (Agronomy, 9.)
- TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: WEAVER, R.W.; SCOTT, A.; BOTTOMELEY, P.J. (eds.) **Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. Part 2, p.778-835, (Special Publication, 5).
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, J.S. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre:

- Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 174p. (Boletim Técnico de Solos, 5).
- TIPPING, E.; WOOF, C.; RIGG, E.; HARRISON, A.F.; INESON, P.; TAYLOR, K.; BENHAM, D.; POSKITT, J.; ROWLAND, A.P.; BOL, R.; HARKNESS, D.D. Climatic influences on the leaching of dissolved organic matter from upland UK moorland soils, investigated by a field manipulation experiment. **Environment International**, Oxford, v.25, p.83–95, 1999.
- TOTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos com indicadores da qualidade do solo. In: ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M. **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: SBCS, 2002. v. 2, p.195-276.
- TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, 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, v.26, n. 2, p.100-106, 1998.
- TURNER, B.L.; HOPKINS, D.W.; HAYGARTH, P.M.; OSTLE, N. β -Glucosidase activity in pasture soils. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.20, p.157-162, 2002.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, p.703-707, 1987.
- Van de WERF, H.; VERSTRAETE, W. Estimation of active soil microbial biomass by mathematical analyses of respiration curves: relation to conventional estimation of total biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, n. 3, p.267-271, 1987.
- VARGAS, L. K.; SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de C-CO₂ e N mineral de um Podzólico Vermelho-escuro submetido a diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, n.1, p. 35-42, 2000.
- VEPSÄLÄINEN, M.; KUKKONEN, S.; VESTBERG, M.; SIRVIÖ, H.; NIEMI, R.M. Application of soil enzyme activity test kit in a field experiment. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.33, p.1665-1672. 2001.
- VEZZANI, F.M. **Qualidade do sistema solo na produção agrícola**. 2001, 184f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.
- WANG, X; LU, Q. Beta-glucosidase activity in Paddy Soils of the Taihu Lake region, China. **Pedosphere**, China, v.16, n. 1, p.118-124, 2006.
- ZORNOZA, R.; GUERRERO, C.; MATAIX-SOLERA, J.; ARCENEGUI, V.; GARCÍA-ORENES, F.; MATAIX-BENEYTO, J. Assessing air-drying and

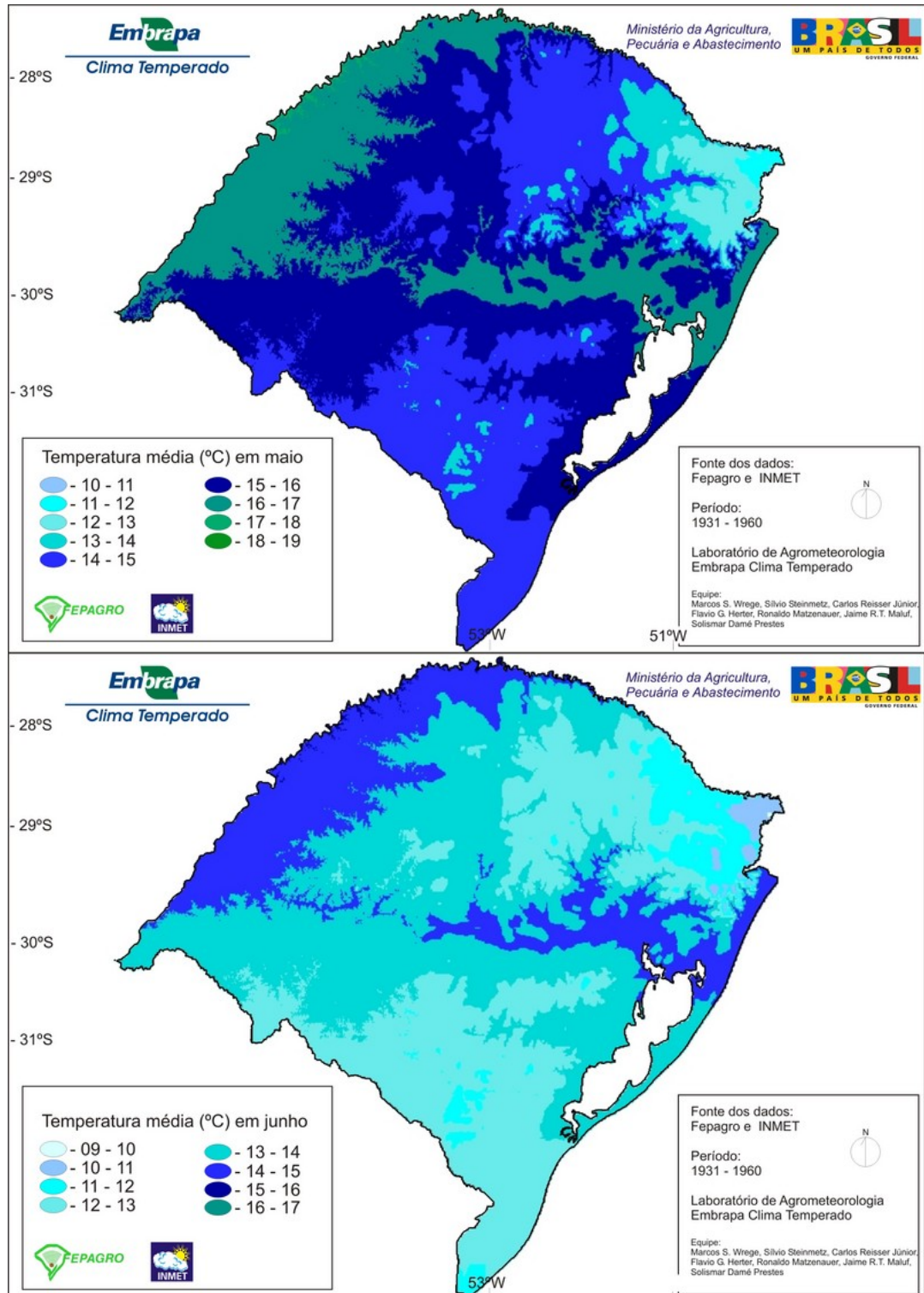
rewetting pre-treatment effect on some soil enzyme activities under Mediterranean conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.38, p.2125-2134, 2006.

8- APÊNDICES

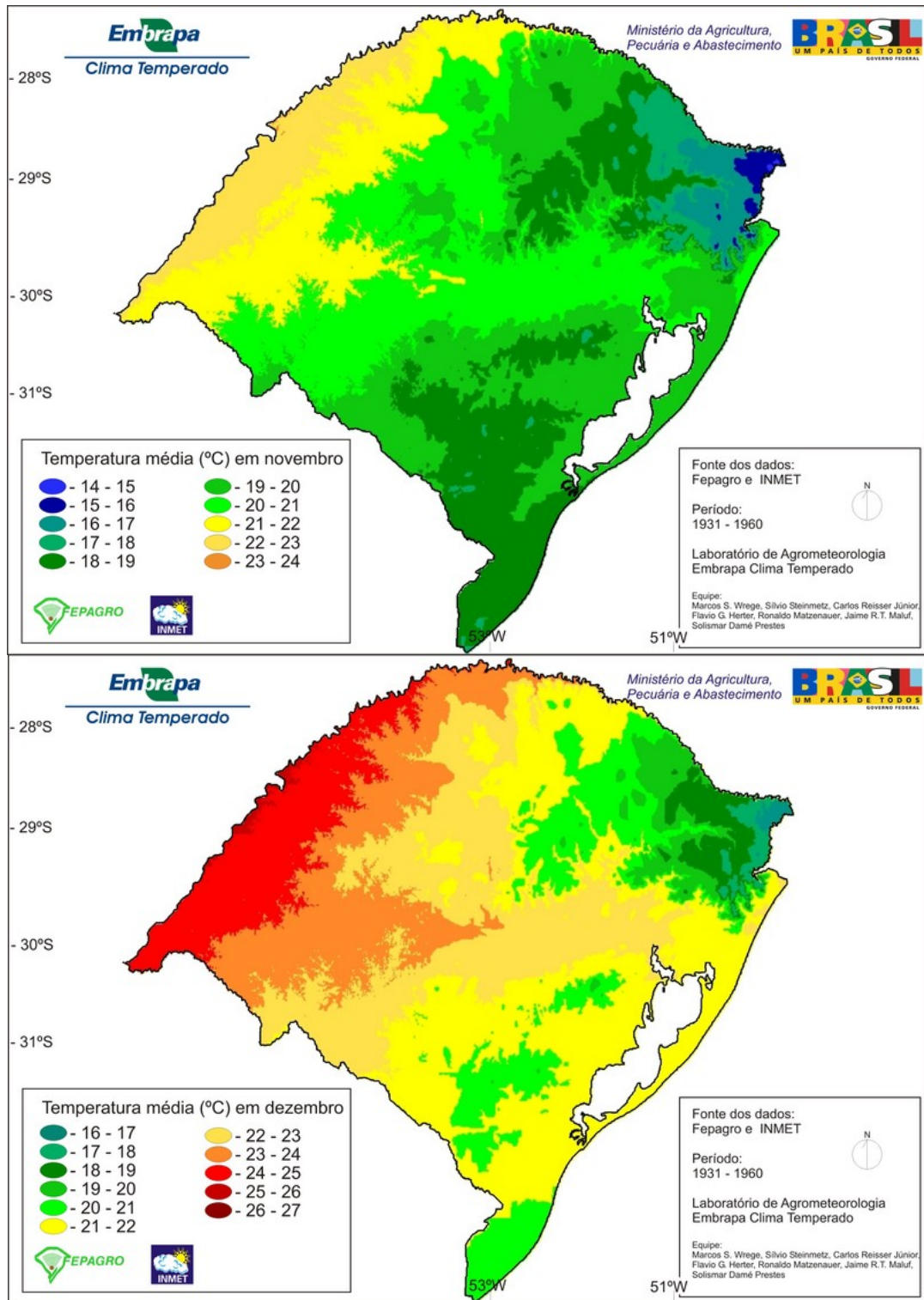
Apêndice 01: Coordenadas de referência das onze localidades onde foram realizadas as coletas de solo para avaliação da atividade enzimática.

Locais	Coordenadas
Morro Alto	S 29° 46' 41,5" W 50° 09' 05,4"
Eldorado do Sul	S 30° 06' 34,6" W 51° 40' 37,4"
Encruzilhada do Sul	S 30° 39' 45,7" W 52° 39' 34,1"
São Gabriel	S 30° 20' 48,6" W 54° 15' 01,7"
Maquiné	S 29° 39' 32,8" W 50° 12' 40,0"
São Borja	S 28° 41' 57,5" W 55° 57' 03,3"
Bento Gonçalves	S 29° 09' 41,8" W 51° 32' 15,7"
Ibirubá	S 28° 33' 31,3" W 53° 06' 53,8"
Cruz Alta	S 28° 36' 00,3" W 53° 40' 21,3"
Santo Ângelo	S 28° 16' 52,3" W 54° 13' 18,1"
Vacaria	S 28° 23' 0,2" W 51° 04' 40,5"

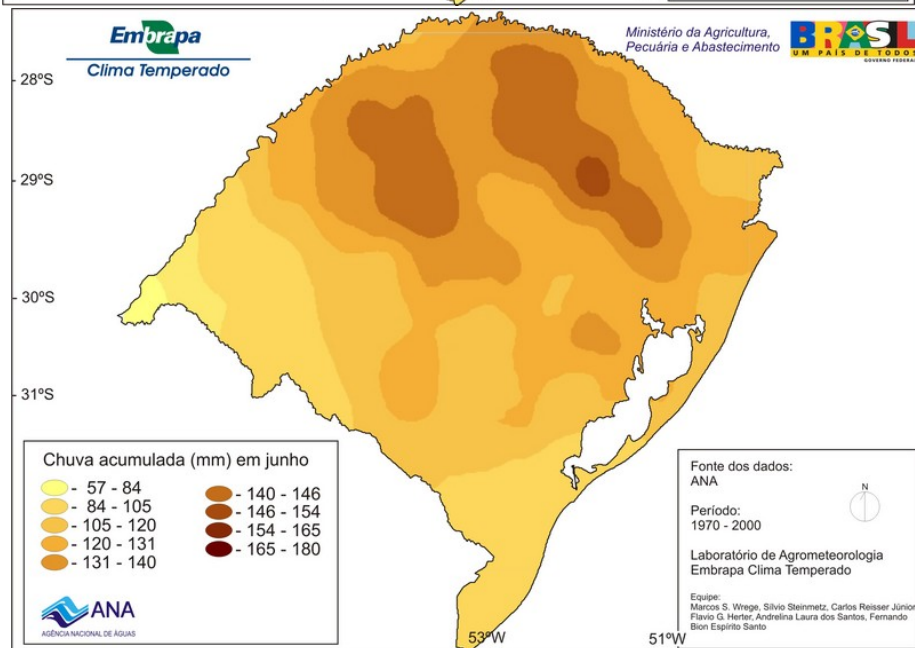
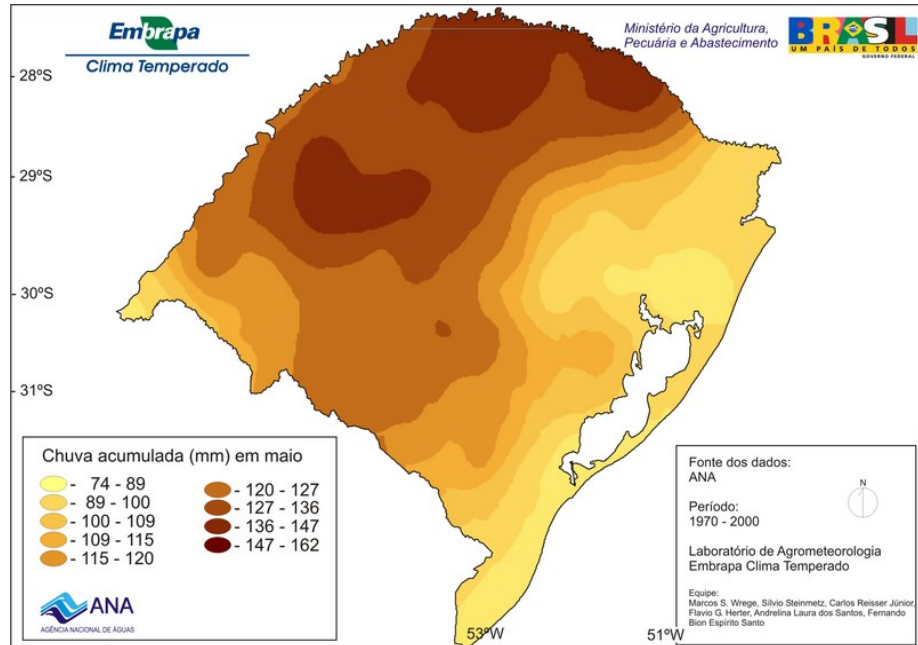
Apêndice 02: Temperaturas médias (°C) no estado do Rio Grande do Sul nos meses de maio e junho.



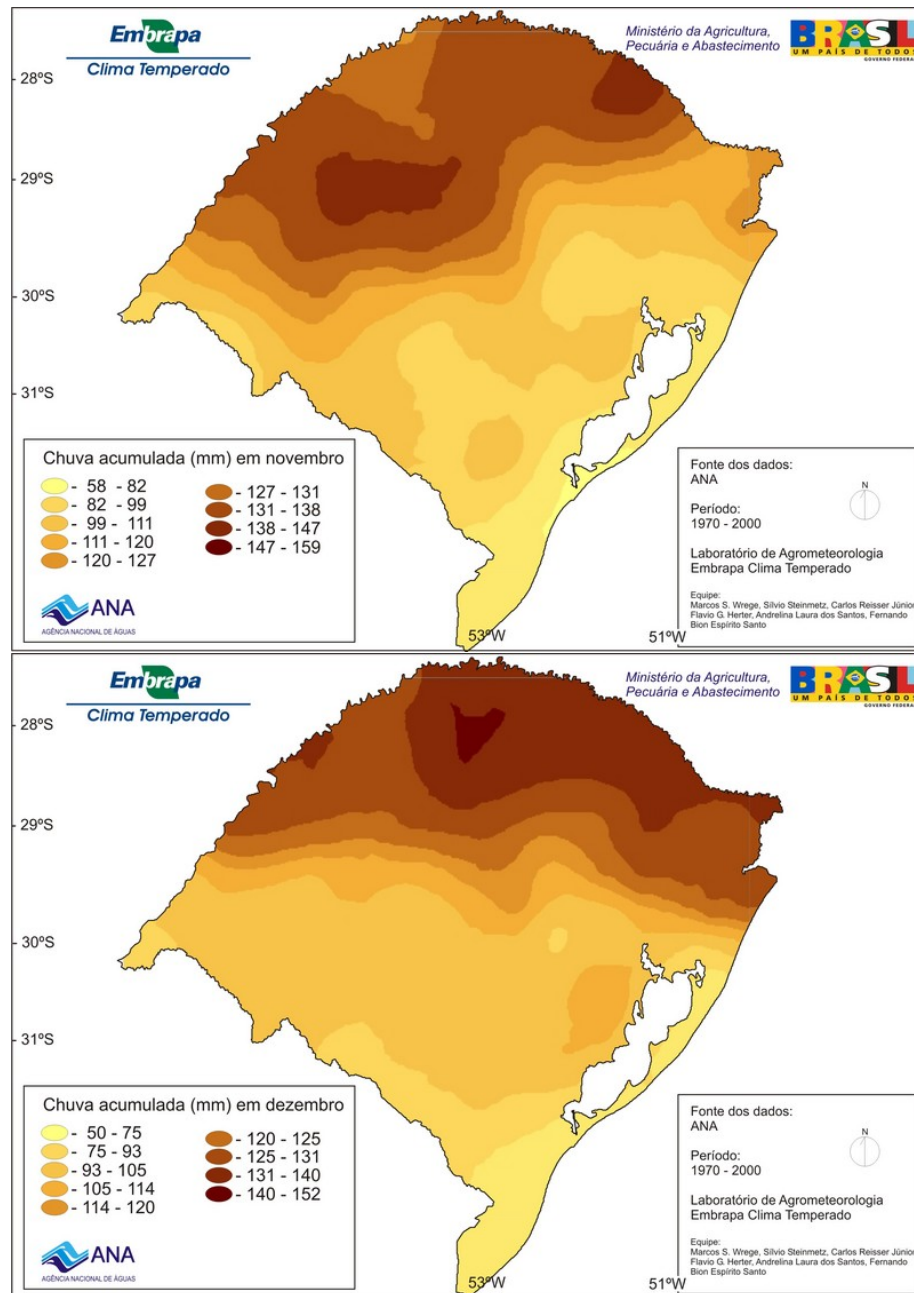
Apêndice 03: Temperaturas médias (°C) no estado do Rio Grande do Sul nos meses de novembro e dezembro.



Apêndice 04: Precipitação acumulada (mm) no estado do Rio Grande do Sul nos meses de maio e junho.



Apêndice 05: Precipitação média acumulada (mm) no estado do Rio Grande do Sul nos meses de novembro e dezembro.



APÊNDICE 06. Características químicas e teor de argila de solos coletados na profundidade de 0-20 cm e sob diferentes situações de uso em Morro Alto, Eldorado do Sul, Encruzilhada do Sul e São Gabriel.

Local	Trat	Argila (g Kg ⁻¹)	pH (H ₂ O)	SMP	P (mg L ⁻¹)	K	CO (%)	Al _{troc}	Ca (cmol _c L ⁻¹)	Mg (cmol _c L ⁻¹)	CTC	Bases (%)	Al
Morro Alto	M ⁽¹⁾	38	3,5	5,2	19,7	61	1,9	1,4	3,5	0,9	6,1	76	23
	CN	45	4,2	5,7	13,8	35	0,8	0,9	3,2	0,7	5,0	81	18
	PC	48	4,1	5,9	70,4	82	0,5	0,6	3,5	0,7	5,1	88	12
Eldorado do Sul	CN	250	4,3	5,8	18,2	146	1,7	0,2	5,8	2,4	8,9	97	2
	PD	220	4,8	5,8	20,7	168	1,3	1,0	1,8	1,2	4,4	36	24
	PC	230	4,8	5,7	11,2	139	1,2	1,2	1,7	0,9	4,2	36	28
Encruzilhada do Sul	M	180	4,5	5,8	20,4	202	2,4	0,4	4,7	1,8	7,7	92	5
	CN	200	4,8	5,9	12,7	142	1,8	0,9	3,7	1,6	6,8	85	13
	PD	250	5,2	6,3	60,4	242	1,8	0,1	6,8	2,5	10,1	98	1
	PC	170	4,7	6,2	24,7	142	1,5	0,2	4,2	1,6	6,6	95	3
São Gabriel	M	220	4,8	5,9	5,4	137	1,7	0,4	5,0	1,9	7,9	94	5
	CN	220	4,5	5,7	13,8	126	2,6	0,6	5,6	2,5	9,3	91	6
	PD	290	4,5	5,9	8,4	187	2,0	0,1	6,2	2,3	9,4	97	1
	PC	310	5,6	6,4	19,7	107	2,0	0,0	9,1	4,5	14,0	100	0

(1) M= mata, CN= campo nativo, PC= plantio convencional, PD= plantio direto.

APÊNDICE 07. Características químicas e teor de argila de solos coletados na profundidade de 0-20 cm e sob diferentes situações de uso em Maquiné, São Borja, Bento Gonçalves e Ibirubá.

Local	Trat	Argila (g Kg ⁻¹)	pH (H ₂ O)	SMP	P (mg L ⁻¹)	K	CO (%)	Al _{troc}	Ca (cmol _c L ⁻¹)	Mg (cmol _c L ⁻¹)	CTC	Bases (%)	Al
Maquiné	M ⁽¹⁾	220	5,1	5,6	45,2	433	2,7	0,1	13,3	5,3	20,2	99	0
	CN	220	4,5	5,5	22,9	316	2,1	0,2	11,1	5,0	17,9	98	1
	PC	240	4,4	5,4	39,5	261	1,4	0,3	11,6	5,0	17,4	98	2
São Borja	M	340	5,3	5,9	31,4	159	2,8	0,1	9,3	2,7	12,6	99	1
	CN	350	5,6	5,8	12,0	46	2,4	0,3	6,9	2,9	10,4	95	3
	PD	300	5,2	5,9	35,6	128	2,5	0,1	8,1	3,3	12,0	98	1
	PC	400	5,1	5,5	48,8	109	1,8	0,4	6,3	2,7	10,0	93	4
Bento Gonçalves	M	230	4,5	5,7	10,9	136	2,9	0,8	5,9	1,3	8,6	89	9
	MA	260	5,4	6,3	75,8	304	2,4	0,1	9,3	2,6	12,9	99	1
	MC	340	5,7	6,3	34,1	185	1,9	0,1	8,8	3,8	13,4	99	1
Ibirubá	M	400	5,2	6,0	7,1	107	3,1	0,2	8,5	3,3	12,5	98	2
	CN	480	6,2	6,7	45,9	582	2,6	0,0	8,2	4,3	14,2	100	0
	PD	540	5,7	6,4	47,0	156	2,0	0,0	8,0	3,5	12,0	100	0
	PC	590	5,2	6,2	26,6	164	1,8	0,3	5,7	2,8	9,3	96	3

(1) M= mata, CN= campo nativo, PC= plantio convencional, PD= plantio direto, MA=manejo alternativo, MC=manejo convencional.

APÊNDICE 08. Características químicas e teor de argila de solos coletados na profundidade de 0-20 cm e sob diferentes situações de uso em Cruz Alta, Santo Ângelo e Vacaria.

Local	Trat	Argila (g Kg ⁻¹)	pH (H ₂ O)	SMP	P (mg L ⁻¹)	K	CO (%)	Al _{troc}	Ca (cmol _c L ⁻¹)	Mg (cmol _c L ⁻¹)	CTC	Bases (%)	Al
Cruz Alta	M ⁽¹⁾	480	5,4	6,4	14,3	252	3,0	0,2	9,7	4,7	15,3	98	1
	CN	480	5,5	5,9	50,2	242	2,7	0,1	7,3	4,4	12,5	99	1
	PD	490	4,8	5,8	73,1	279	2,4	0,7	6,4	2,6	10,6	92	7
	PC	600	4,8	5,8	24,1	148	2,1	1,1	5,8	2,3	9,8	88	11
Santo Ângelo	M	400	6,1	6,8	15,0	236	3,6	0,0	15,9	4,2	20,8	100	0
	CN	480	5,5	5,6	12,5	136	3,3	0,6	5,9	3,2	10,3	92	6
	PD	580	5,0	5,8	49,7	136	2,5	0,5	7,0	3,1	11,0	95	5
	PC	650	5,2	6,0	64,7	162	2,2	0,4	7,2	2,9	11,1	95	4
Vacaria	M	570	4,4	5,2	15,9	261	5,6	1,0	9,3	2,6	13,9	91	4
	CN	470	5,2	5,6	28,1	100	4,7	0,5	7,7	5,1	13,8	96	2
	PD	530	5,2	6,1	52,7	310	3,5	0,3	8,3	4,6	14,1	98	1

(1) M= mata, CN= campo nativo, PC= plantio convencional, PD= plantio direto.

Apêndice 09: Umidade gravimétrica de solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, cultivados sob diferentes sistemas de manejo e sob vegetação nativa, coletados entre novembro e dezembro de 2005, na profundidade de 0-20 cm.

Umidade gravimétrica				
(g Kg⁻¹)				
Locais	MN	CN	PD	PC
Morro Alto	102	52	---	42
Eldorado do Sul	---	116	126	124
Encruzilhada do Sul	83	94	131	120
São Gabriel	91	78	91	76
Maquiné	230	224	---	196
São Borja	126	122	137	79
Bento Gonçalves	250	---	221	185
Ibirubá	188	179	146	169
Cruz Alta	215	150	192	158
Santo Ângelo	214	169	190	188
Vacaria	281	251	231	---

Apêndice 10: Umidade gravimétrica de solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, cultivados sob diferentes sistemas de manejo e sob vegetação nativa, coletados entre maio e junho de 2006, na profundidade de 0-20cm.

Umidade gravimétrica				
(g Kg⁻¹)				
Locais	MN	CN	PD	PC
Morro Alto	82	61	---	52
Eldorado do Sul	---	115	132	141
Encruzilhada do Sul	87	98	126	105
São Gabriel	96	120	141	141
Maquiné	222	239	---	221
São Borja	160	152	182	136
Bento Gonçalves	214	---	229	199
Ibirubá	215	194	166	191
Cruz Alta	236	195	197	184
Santo Ângelo	240	218	214	199
Vacaria	232	278	248	---

APÊNDICE 11. Carbono da biomassa microbiana em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições).

Trat	Carbono da Biomassa Microbiana (mg C kg ⁻¹ solo)							
	Novembro-dezembro/2005*				Maio-junho/2006*			
	MN ⁽¹⁾	CN	PD	PC	MN	CN	PD	PC
MA ⁽²⁾	49,3 a	56,9 a	---	14,5 a	71,3 a	58,4 a	---	24 a
E	---	121 b	90,6 b	187,7 a	---	345 a	329,3 a	315 a
ES	361,2 a	403,1a	149,8 b	375 a	114,4 a	111,3 a	75,4 a	103,1 a
SG	150,4 c	380 a	201,7 b	214,8 b	218,6 c	307,1 bc	355,3 b	508,9 a
M	139 a	97a	---	28,6 b	219 a	198 a	---	271 a
SB	357,9 a	405,4 a	379,1 a	285,4 b	363,9 ab	448 a	420,1 a	304,9 b
BG	129,5 a	---	129,9 a	98,7 a	569 a	---	525,7 a	427,7 b
IB	190,1 a	93,5 b	146,7 a	30 c	247,4 a	213,7 a	90,2 b	115,7 b
CA	228,1 a	67,4 b	57,5 b	81,6 b	298,1 b	537,5 a	377,7 b	353,1 b
SA	352,6 a	263,7 b	164,6 c	140,5 c	551,6 a	446 b	253,3 c	210,9 c
V	235,3 a	165,4 b	82,7 c	---	123,5 b	220,1 a	161,1 ab	---
	CV= 12,7%				CV= 15,3%			

(1) MN=mata nativa; CN=campo nativo; PD= plantio direto; PC= plantio convencional;

(2) MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria.

*Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

APÊNDICE 12. Respiração microbiana em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições).

Trat	Respiração Microbiana (mg C-CO ₂ kg ⁻¹ solo)								
	Novembro-dezembro/2005				Maio-junho/2006				
	MN	CN	PD	PC	MN	CN	PD	PC	
MA	65 a	77 a	---	40,3 a	60 a	46 a	---	18,5 a	
E	---	139,5 a	103 a	110 a	---	56,2 a	72,2 a	42 a	
ES	183,1 b	310,5 a	126,6 c	160,3 bc	59,3 a	55,5 a	22,9 a	73,6 a	
SG	135 bc	220 a	118 c	172 b	28 a	23 a	22 a	71 a	
M	133 a	81 b	---	33 c	61 a	80 a	---	57,8 a	
SB	217 a	195 a	177 a	188 a	51 a	57 a	81 a	31 a	
BG	155 a	---	180 a	151 a	113 a	---	92,8 a	90 a	
IB	184 a	118 b	78 b	30 c	41 ab	84 a	14 b	25 ab	
CA	229 a	59 b	79 b	44 b	80 a	60 a	51 a	20 a	
SA	239 a	183 b	156 b	148 b	75 a	67 a	57 a	44 a	
V	284 a	167 b	139 b	---	36 a	66 a	60 a	---	
CV (%)= 13,7				CV (%)= 46,9					

(1) MN=mata nativa; CN=campo nativo; PD= plantio direto; PC= plantio convencional;

(2) MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria.

*Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

APÊNDICE 13. Atividade da enzima β -glucosidase em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições).

Trat	β -glucosidase ($\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$)							
	Novembro-dezembro/2005				Maio-junho/2006			
	MN	CN	PD	PC	MN	CN	PD	PC
MA	101 a	54 ab	---	27 b	55 a	41 a	---	42 a
E	---	123 a	81 a	76 a	---	57 a	48 a	47 a
ES	81 b	119 ab	163 a	96 b	90 a	61 bc	41 c	76 ab
SG	142 a	173 a	167 a	152 a	49 b	49 b	62 b	122 a
M	167 a*	141 a	---	62 b	84 a	83 a	---	58 b
SB	191 a	113 b	193 a	119 b	131 a	91 bc	115 ab	82 c
BG	145 ab	---	98 b	153 a	132 ab	---	119 b	152 a
IB	134 b	257 a	140 b	78 c	91 bc	148 a	70 c	104 b
CA	189 b	275 a	213 b	105 c	112 a	126 a	105 a	75 b
SA	211 a	202 a	213 a	124 b	145 a	89 bc	97 b	70 c
V	350 a	371 a	339 a	---	151 c	222 a	175 b	---
	CV (%)= 15,7				CV (%)= 12,3			

(1) MN=mata nativa; CN=campo nativo; PD= plantio direto; PC= plantio convencional;

(2) MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria.

*Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

APÊNDICE 14. Atividade da enzima fosfatase ácida em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições).

Trat	Fosfatase ácida ($\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$)							
	Novembro-dezembro/2005				Maio-junho/2006			
	MN	CN	PD	PC	MN	CN	PD	PC
MA	342 a	209 a	---	117 b	227 a	268 a	---	131 a
E	---	592 a	332 b	275 b	546 a	379 b	370 b	332
ES	817 ab	885 ab	945 a	747 b	515 a	211 b	165 b	273 b
SG	665 a	815 ab	602 b	581 b	364 a	421 a	367 a	524 a
M	951 a*	1035 ab	---	501 b	481 ab	618 a	---	373 b
SB	934 a	714 b	885 a	502 c	572 a	406 ab	480 a	293 b
BG	955 a	---	684 b	561 b	1011 a	---	524 b	414 b
IB	958 b	1186 a	445 c	408 c	1000 a	927 a	395 b	475 b
CA	961 a	798 b	584 c	427 c	757 a	669 a	389 b	311 b
SA	839 b	1066 a	631 c	515 c	587 a	699 a	315 b	360 b
V	1587 a	1310 b	786 c	---	471 b	782 a	519 b	---
	CV (%)= 10,1				CV (%)= 16,8			

(1) MN=mata nativa; CN=campo nativo; PD= plantio direto; PC= plantio convencional;

(2) MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria.

*Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

APÊNDICE 15. Atividade da enzima urease em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições).

Trat	Urease ($\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo } 2\text{h}^{-1}$)							
	Novembro-dezembro/2005				Maio-junho/2006			
	MN	CN	PD	PC	MN	CN	PD	PC
MA	30 ab	40 a	---	7 b	25 a	37 a	---	10 a
E	---	52 a	31 b	17 b	---	26 a	16 a	11 a
ES	36 b	68 a	41 b	44 b	59 a	44 ab	21 b	38 ab
SG	62 b	87 a	49 b	72 ab	22 a	24 a	22 a	59 b
M	123 a*	44 b	---	29 b	32 a	20 a	---	16 a
SB	49 a	31 ab	33 ab	16 b	44 a	26 a	27 a	15 a
BG	102 a	---	43 b	13 c	85 a	---	42 b	24 b
IB	45 a	65 a	14 b	15 b	56 a	64 a	25 b	34 ab
CA	94 a	47 b	24 bc	17 c	53 a	37 ab	23 ab	18 b
AS	140 a	63 b	24 c	22 c	169 a	96 b	26 c	24 c
V	137 a	123 a	41b	---	24 b	57 a	25 b	---
	CV (%)= 20,1				CV (%)= 35,9			

(1) MN=mata nativa; CN=campo nativo; PD= plantio direto; PC= plantio convencional;

(2) MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria.

*Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.

APÊNDICE 16. Hidrólise de FDA em solos de onze localidades do Rio Grande do Sul, em áreas cultivadas e de vegetação nativa, em duas épocas de coleta na profundidade de 0 a 20 cm. (Média de 3 repetições).

Trat	Hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA)							
	Novembro-dezembro/2005				Maio-junho/2006			
	MN	CN	PD	PC	MN	CN	PD	PC
MA	619 b	878 a	---	554 b	669 a	540 a	---	201 b
E	--	648 a	626 a	619 a	---	547 a	576 a	525 a
ES	655 a	526 a	468 a	626 a	583 b	712 a	518 b	633 ab
SG	763 a	698 a	691 a	511 a	662 a	691 a	698 a	576 a
M	828 a*	698 a	---	259 b	676 a	676 a	---	417 b
SB	482 a	540 a	576 a	490 a	511 ab	583 a	662 a	403 b
BG	619 a	---	576 a	526 a	712 a	---	230 b	295 b
IB	655 a	662 a	338 b	432 ab	705 a	662 ab	446 c	518 bc
CA	900 a	778 a	778 a	727 a	835 a	720 a	712 a	777 a
SA	432 b	734 a	475 ab	475 ab	540 c	864 a	741 ab	626 bc
V	533 b	929 a	972 a	---	864 b	1072 a	828 b	---
	CV (%)= 20,3				CV (%)= 12,0			

(1) MN=mata nativa; CN=campo nativo; PD= plantio direto; PC= plantio convencional;

(2) MA= Morro Alto; E= Eldorado do Sul; ES= Encruzilhada do Sul; SG= São Gabriel; M= Maquiné; SB= São Borja; BG= Bento Gonçalves; IB= Ibirubá; CA= Cruz Alta; StA= Santo Ângelo; V= Vacaria.

*Médias seguidas da mesma letra em cada local não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Student a 5%.