



## **ANÁLISE MICROBIANA E ENZIMÁTICA DE SEDIMENTOS EM UM CORPO HÍDRICO DO CERRADO MINEIRO SOB INFLUÊNCIA URBANA**

Fernanda Cássia Guidastre<sup>1</sup>

Rodrigo Ney Millan<sup>2</sup>

Osania Emerenciano Ferreira<sup>3</sup>

Guilherme César Melozi<sup>4</sup>

Uso de tecnologia para monitoramento ambiental.

### *Resumo*

O crescimento populacional não planejado em áreas urbanas tem causado impactos ambientais severos, incluindo o aumento na produção de resíduos sólidos, que frequentemente são descartados de forma inadequada em recursos hídricos urbanos. Os sedimentos fluviais funcionam como reservatórios de substâncias orgânicas e inorgânicas, podendo ser um indicador da saúde ambiental de ecossistemas aquáticos. Neste contexto, o presente estudo avaliou a qualidade de sedimentos do Ribeirão Frutal em três pontos a montante do ponto de captação de água da cidade, realizando análises microbianas e enzimáticas dos sedimentos. Foram observadas variações significativas nas atividades de arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase e desidrogenase, indicando o impacto da urbanização e dos despejos urbanos na qualidade do ribeirão. O aumento expressivo da arilsulfatase no Ponto 2 sugere maior presença de matéria orgânica e sulfatos, enquanto a menor atividade de  $\beta$ -glicosidase no Ponto 2 aponta para a presença de substratos orgânicos mais complexos. A fosfatase apresentou um aumento ao longo dos pontos de coleta, sugerindo o acúmulo de compostos fosfatados, e a desidrogenase teve leve elevação no Ponto 3, indicando uma possível carga crescente de poluentes biodegradáveis. Estes resultados reforçam a influência da poluição urbana na qualidade da água e dos sedimentos, sublinhando a necessidade urgente de implementar medidas de controle e gestão sustentável dos resíduos para proteger os recursos hídricos, em especial este sistema, que é utilizado para captação de água para aporte público da cidade de Frutal-MG.

**Palavras-chave:** Quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>); Quociente microbiano (qMic); Qualidade de sedimentos.

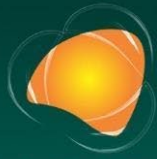
---

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade do Estado de Minas Gerais, Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, [fernanda.guidastre@uemg.br](mailto:fernanda.guidastre@uemg.br).

<sup>2</sup> Prof. Dr. Rodrigo Ney Millan, Universidade do Estado de Minas Gerais, Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, [rodrigo.millan@uemg.br](mailto:rodrigo.millan@uemg.br)

<sup>3</sup> Prof. Dra. Osania Emerenciano Ferreira, Universidade do Estado de Minas Gerais, Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, [osania.ferreira@uemg.br](mailto:osania.ferreira@uemg.br).

<sup>4</sup> Discente do Curso de Engenharia Agrônômica, Universidade do Estado de Minas Gerais, Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, [meloziguilherme@gmail.com](mailto:meloziguilherme@gmail.com).



## INTRODUÇÃO

Os ecossistemas podem ser descritos como redes interligadas, onde os diferentes compartimentos (como atmosfera, água, solo e sedimento) interagem por meio de reações físicas e químicas, que podem ser influenciadas ou não por processos biológicos. Em ecossistemas aquáticos, os sedimentos desempenham um papel fundamental, funcionando tanto como reservatórios quanto como fontes de nutrientes e contaminantes. Os contaminantes presentes nos sedimentos podem ser transferidos para compartimentos vizinhos, como a coluna d'água e, possivelmente, para os organismos aquáticos, de maneira contínua e prolongada. Essa transferência é influenciada por fatores como as condições de oxirredução, pH, concentração da substância, hidrodinâmica do ambiente, entre outros (Förstner; Solomons, 1981; Kjerfve *et al.*, 1997). Assim, o risco ecológico e, conseqüentemente, o risco à saúde humana, está ligado a essas condições que facilitam os processos de bioacumulação e transferência de contaminantes ao longo das cadeias tróficas (Burton, 2002).

Considerando que os sedimentos são vias potenciais de exposição a riscos ecológicos e de saúde, organismos reguladores internacionais têm desenvolvido estratégias para monitorar e controlar a contaminação nesse compartimento. A identificação de níveis de referência (*background*) é uma das estratégias fundamentais nesse contexto. Atualmente, é comum complementar essa abordagem com a análise dos efeitos biológicos, tanto em campo quanto em ensaios laboratoriais. É recomendável que essas avaliações sejam integradas em métodos de avaliação de risco (Burton, 2002; USEPA, 1991; Linkov *et al.*, 2006). Esses métodos frequentemente utilizam uma variedade de indicadores, tais como: a) bioindicadores, como a caracterização da comunidade bentônica e análise de habitats; b) indicadores físicos, como a hidrodinâmica; c) biomarcadores, como a concentração e atividade enzimática, além de análises moleculares (expressão gênica, proteoma, etc.); e d) testes de toxicidade realizados tanto em campo quanto em laboratório (Burton, 2002).

Indicadores da qualidade do solo são atributos que quantificam ou refletem o estado ambiental, sendo os indicadores biológicos do solo considerados altamente responsivos às alterações no ambiente ocasionadas por ações antrópicas (Pôrto *et al.*, 2009). Em alguns casos, mudanças nos atributos microbiológicos do solo podem preceder modificações nas propriedades químicas e físicas, refletindo um claro sinal na melhoria ou na degradação do solo como um todo (Araújo; Monteiro, 2007)



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

Os indicadores biológicos, como biomassa microbiana, respiração basal, atividade enzimática, quociente metabólico e quociente microbiano são os mais utilizados para inferir a qualidade do solo durante as avaliações dos processos biológicos que acontecem no ambiente (Araújo *et al.*, 2012).

Através destas abordagens um estudo modificado para sedimentos foi realizado com o objetivo de contribuir com informações sobre a atividade metabólica na qualidade dos sedimentos do Ribeirão Frutal em trecho urbanizado, por meio da quantificação da atividade enzimática, carbono total, carbono de biomassa microbiano, atividade respiratória, quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) e quociente microbiano (qMic).

## METODOLOGIA

### *Localização e caracterização da área de estudo*

A pesquisa foi conduzida em trecho urbano no córrego Ribeirão Frutal do município de Frutal –MG, localizado em altitude média de 531 m.s.n.m. (Figura 1).

O município de Frutal localiza-se no estado de Minas Gerais, no triângulo mineiro compondo uma das doze mesorregiões do estado. Está localizado na porção oeste do estado de Minas Gerais, abrangendo uma área total de 53.725 km<sup>2</sup>, onde se localizam 35 municípios (IBGE, 2010). O clima definido como Aw, segundo a classificação Köppen-Geiger, tropical sazonal com inverno seco e verão chuvoso (Alvares *et al.*, 2013).

Tem um período de inverno seco de abril a setembro e um período chuvoso de verão de outubro a março. Chove muito mais no verão que no inverno. Da mesma forma, o município de Frutal, apresenta temperatura média anual de 23,9 °C, precipitação em torno de 1429 mm. (CLIMATE-DATA.ORG, 2020).

### *Período e pontos de coleta*

A coleta de sedimentos foi realizada em três pontos a montante do local de captação de água da cidade de Frutal. Os pontos demarcados pelos códigos **P1** (20°01'01.9"S 48°56'41.0"W), **P2** (20°01'01.7"S 48°56'41.0"W) e **P3** (20°01'01.9"S 48°56'41.0"W) na figura 1, representam os Pontos 1, 2 e 3 respectivamente, com distância aproximada de 50 m entre eles, posicionados em trecho urbano



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

do Ribeirão Frutal, onde as atividades antrópicas de alto impacto são diversas, como o lançamento de efluentes (urbanos e industriais) e ocupação desordenada do solo pela urbanização e por atividades agrosilvipastoris, aumentando os nutrientes nesses ambientes.

A coleta de sedimento ocorreu no mês de abril/2024 (período seco), as 10h, com o uso de um cano de PVC. Coletou-se aproximadamente 500 g de sedimento em cada ponto, que foram acondicionados em saco plástico com fecho hermético.



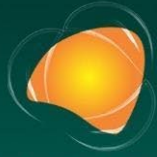
Figura 1: Área de estudo com identificação dos pontos de coleta.

Fonte: Google Earth, 2024.

### ***Mensuração da atividade enzimática***

A atividade da desidrogenase no sedimento foi determinada segundo Casida *et al.* (1964), com algumas modificações. Foram adicionados 5 mL de solução com 20 g L<sup>-1</sup> de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) a 5 g de solo, peneirado em malha de 2 mm. A mistura foi homogenizada e incubada em banho-maria a 37°C no escuro, por um período de 24 horas. O trifênil formazan (TTF) formado pela redução do TTC foi extraído com 20 mL de metanol. Após centrifugação, o sobrenadante foi transferido para uma cubeta e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 485 nm. A análise foi realizada em triplicata e os resultados expressos em µg TTF g<sup>-1</sup> de solo 24 horas<sup>-1</sup>.

A determinação da atividade da arilssulfatase foi realizada conforme Tabatabai e Bremner (1970) e os resultados foram expressos em mg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> de solo hora<sup>-1</sup>.



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

A atividade da fosfatase ácida no sedimento foi determinada conforme Eivazi e Tabatabai (1977). A formação de *p*-nitrofenol foi determinada por espectrofotometria na região do espectro de 410 nm, sendo o resultado expresso em  $\mu\text{g}$  de *p*-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  de solo  $\text{hora}^{-1}$ .

A atividade da beta-glicosidase foi estimada de acordo com Tabatabai (1994), por meio da determinação colorimétrica do *p*-nitrofenol, liberado pela enzima, quando o solo é incubado com um substrato específico (*p*-nitrofenil-beta-D-glicopironosídeo).

### **Quantificação da biomassa, carbono orgânico total e respiração basal**

A biomassa microbiana foi determinada pelo método irradiação-incubação, descrito por Ferreira *et al.* (1999), utilizando-se a radiação de micro-ondas para eliminação dos microrganismos.

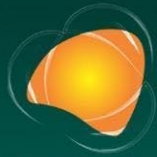
O carbono orgânico total (COT) foi determinado por meio da oxidação via úmida segundo metodologia de Mendonça e Matos (2005). O valor do COT foi calculado com base no volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação dos brancos e da amostra, sendo expresso em  $\text{dag kg}^{-1}$ .

A Respiração Basal do Solo foi avaliada utilizando o método estático sugerido por Mendonça e Matos (2005). As amostras de sedimento foram incubadas junto com solução de NaOH a  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , em recipiente fechado hermeticamente a  $25^\circ\text{C}$ . A respiração do sedimento foi determinada em  $\text{mg}$  de carbono respirado em  $100 \text{ cm}^3$  de sedimento.

O Quociente Metabólico ( $q\text{CO}_2$ ) foi determinado pela razão entre o carbono do  $\text{CO}_2$  liberado e o carbono da biomassa microbiana do solo, já o Quociente Microbiano ( $q\text{Mic}$ ) foi determinado pela relação entre o carbono da biomassa microbiana (CBM) e o carbono orgânico total (COT), segundo metodologia descrita por Anderson e Domsch (1993). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados indicam variações significativas na atividade enzimática ao longo do curso do Ribeirão Frutal, sugerindo uma influência da urbanização e dos despejos urbanos na qualidade da água e nos processos biogeoquímicos do sedimento. Quando da avaliação da atividade de arilsulfatase, esta apresentou valores menores no Ponto 1, seguida do Ponto 3 sendo que no Ponto 2 o valor foi 126,35% maior em relação ao Ponto 1 e 92,01% maior em relação ao Ponto 3 (Figura 2). Esta enzima está



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

envolvida na degradação de compostos orgânicos sulfurados, este aumento significativo no Ponto 2 pode indicar maior presença de matéria orgânica e sulfatos, possivelmente devido a influência dos despejos urbanos ou escoamento superficial contendo resíduos orgânicos (Figura 2) (Nogueira; Mello, 2003).

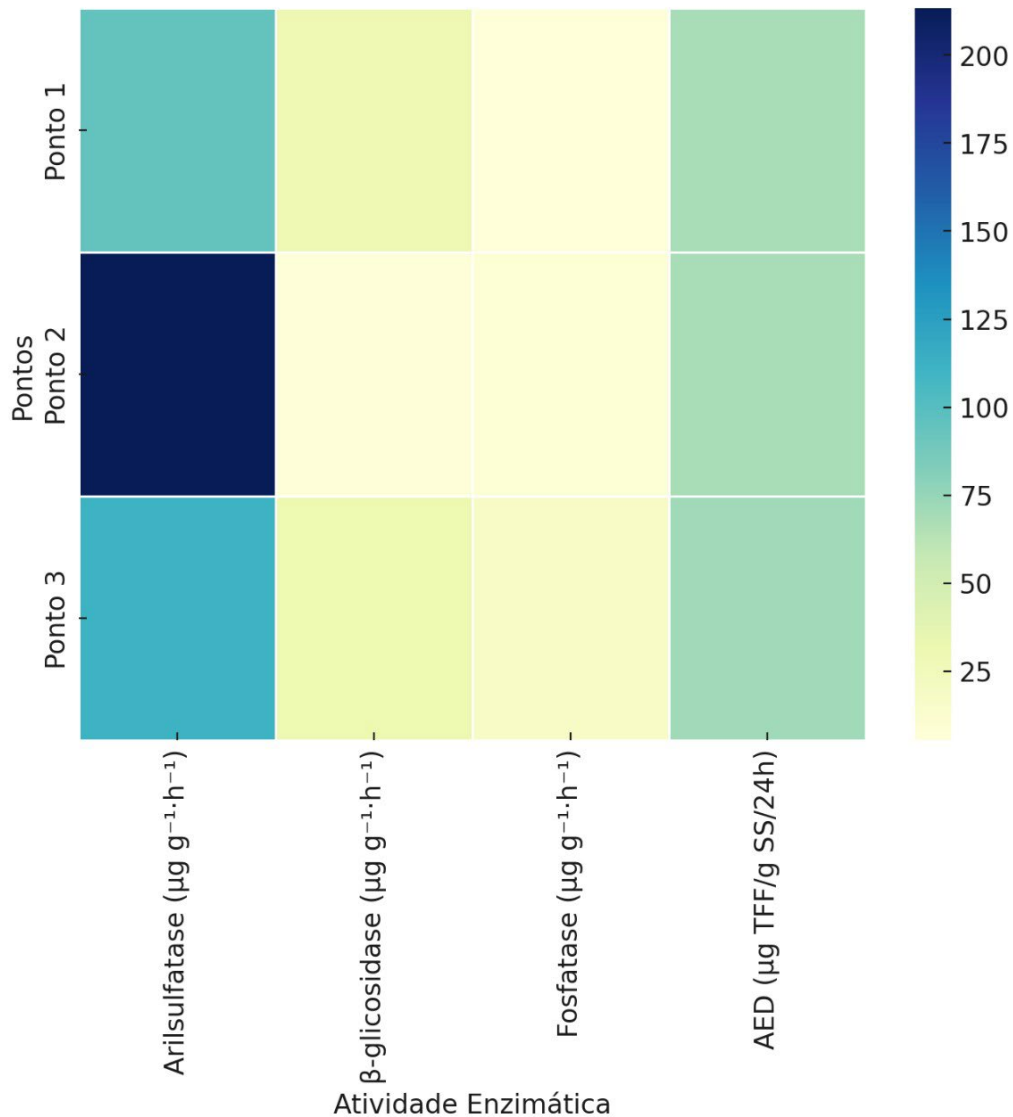
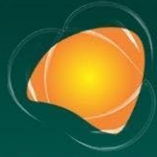


Figura 2: Atividades enzimáticas dos sedimentos de três pontos a montante da captação de água do Ribeirão Frutal.



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

A  $\beta$ -glicosidase apresentou a menor atividade no Ponto 2, com os pontos 1 e 3 apresentando valores muito próximos. Esta enzima é responsável pela degradação de  $\beta$ -glicosídeos em carboidratos simples, os valores mais baixos em Ponto 2 podem sugerir uma menor quantidade de substratos disponíveis para esta enzima, o que pode estar relacionado a variações na composição da matéria orgânica, indicando a presença de compostos mais complexos que não são facilmente degradados por esta enzima (Figura 2) (Ceccantti *et al.*, 2008).

A atividade da fosfatase, que participa na liberação de fosfatos de compostos orgânicos, observou-se um aumento contínuo da atividade desta enzima ao longo dos pontos de amostragem, o que pode indicar uma acumulação progressiva de matéria orgânica e resíduos urbanos ricos em compostos fosfatados. Esses aumentos podem indicar poluição por material orgânico, que pode afetar negativamente a qualidade da água (Balota *et al.*, 2013). A atividade de desidrogenase, que é um indicador de atividade microbiológica total no sedimento, mostrou valores iguais nos pontos 1 e 2 e levemente maior no Ponto 3, fato este que acompanhou para a AED (Figura 2). A atividade relativamente constante, mas ligeiramente crescente de AED, indica que há uma atividade microbiológica ativa ao longo do ribeirão, o que pode ser um sinal de decomposição contínua da matéria orgânica (Friedel; Mölter; Ficher, 1994), ou seja, o leve aumento possa sugerir uma carga crescente de poluentes biodegradáveis à medida que o córrego atravessa a área urbana.

Assim, os dados de atividade enzimática permitem ter uma visão dos processos ecológicos e da qualidade da água no Ribeirão Frutal. A correlação dos resultados com o contexto urbano sugere que a poluição orgânica é um fator significativo que influencia a atividade enzimática e, conseqüentemente, a saúde do Ribeirão Frutal. Medidas de controle de poluição e gestão sustentável dos resíduos urbanos são importantes para melhorar e manter a qualidade da água neste recurso hídrico.

O COT não indicou variação ao longo do percurso do ribeirão. A leve diferença sugere que há uma entrada contínua de matéria orgânica, possivelmente de origem urbana, ao longo do curso d'água. O CBM teve maior valor no Ponto 3, sendo 295% maior em relação ao Ponto 1 e 271% maior em relação ao Ponto 2 (Tabela 1). Esse aumento pode ser atribuído a uma maior disponibilidade de substratos orgânicos e melhores condições para o crescimento microbiano (Luo *et al.*, 2016).



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

Tabela 1: Carbono Total (COT), Carbono de Biomassa Microbiano (CBM), Respiração Basal (RBS), Quociente Metabólico (qCO<sub>2</sub>) e Quociente Microbiano (qMic), em sedimentos do Ribeirão Frutal ao longo de um trecho urbano.

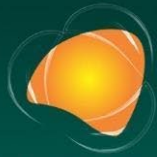
Amostras	Carbono Orgânico Total (COT)	Carbono de Biomassa Microbiana (CBM)	Respiração Basal (RBS)	Quociente Metabólico (qCO <sub>2</sub> )	Quociente Microbiano (qMic)
	g Kg <sup>-1</sup>	µg g <sup>-1</sup> de C	mg CO <sub>2</sub> 100g <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup>	%
Ponto 1	0,07	55,97	116,33	2,07	811,09
Ponto 2	0,08	59,48	95,81	1,61	743,46
Ponto 3	0,08	221,23	93,02	0,42	2836,29

A RBS acompanhou os valores de CBM e foi mais alta no P1. A diminuição da atividade respiratória nos Pontos 2 e 3 pode indicar uma mudança na qualidade e na decomposição da matéria orgânica, refletindo variações nas condições abióticas e na disponibilidade de substratos (Urbano *et al.*, 2015). O qCO<sub>2</sub>, que indica a eficiência do uso de substratos pelos microrganismos, foi alto no Ponto 1 e menor no Ponto 3. A menor taxa no Ponto 3 sugere uma maior eficiência no uso de substratos, possivelmente devido à menor competição por recursos (Cunha *et al.*, 2011). Já o qMic foi mais alto no Ponto 3, indicando uma alta proporção de biomassa microbiana em relação ao carbono orgânico total. Isso pode refletir uma maior atividade microbiana e rápida decomposição de matéria orgânica no Ponto 3, Tab. 1 (Jakelaitis *et al.*, 2008).

Ao avaliar a correlação entre os dados de RBS e atividade enzimática sugere que a poluição urbana tem impacto significativo na saúde ecológica do Ribeirão Frutal. O aumento na atividade de arilsulfatase e fosfatase pode indicar maior presença de compostos orgânicos e nutrientes, enquanto a variação na β-glicosidase e nos quocientes metabólicos sugere diferenças na composição da matéria orgânica e na eficiência do uso de substratos microbianos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS





## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

A variação na atividade enzimática e nos parâmetros de respiração basal do sedimento ao longo dos pontos de amostragem reflete a entrada de poluentes orgânicos e a disponibilidade de substratos para os microrganismos, o que pode afetar a qualidade da água que é captada para abastecimento público do município de Frutal-MG. Medidas de controle da poluição e gestão sustentável dos resíduos urbanos são importantes para melhorar e manter a qualidade da água e a saúde do Ribeirão Frutal. A integração de dados enzimáticos e de respiração basal do sedimento fornece informações que permitem monitorar e entender as transformações e perdas nos compartimentos orgânicos do sedimento, contribuindo para a conservação e gestão de recursos hídricos.

### **A**GRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro relacionado ao Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP).

### **R**EFERÊNCIA

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effect of environmental condition, such as pH on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ARAÚJO, S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, Uberlândia-MG, v. 23, n. 3, P. 66-75, 2007.

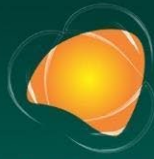
ARAÚJO, E. A.; KER, J. C.; NEVES, J. C. L.; LANI, J. L. Qualidade do solo: conceitos, indicadores e avaliação. **Pesquisa Aplicada & Tecnologia, Guarapuava**, v. 5, n. 1, p. 187-206, 2012.

BALOTA, E. L.; NOGUEIRA, M. A.; MENDES, I. C.; HUNGRIA, M.; FAGOTTI, D. S. L.; MELO, G. M. P. SOUZA, R. C.; MELO, W. J. Enzimas e seu papel na Qualidade do Solo. **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 8, p. 221-278, 2013.

BURTON, G. A. Sediment quality criteria in use around the world. **Limnology**, v. 3, p. 65-76, 2002.

CASIDA, L. E.; KLEIN, D. A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, v. 98, n. 6, p. 371-376, 1964.

CECCANTI, B.; DONI, A.; MACCI, C.; CERCIGNANI, G.; MASCIANDARO, G. Characterization



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

of stable humic-enzyme complexes of different soil ecosystems through analytical isoelectric focussing technique (IEF). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2174–2177, 2008.

CLIMATE-DATA.ORG. **Clima Frutal (Brasil)**. 2020. Disponível em: <https://es.climate-data.org/america-del-sur/brasil/minas-gerais/frutal-24960/>. Acesso em 22 jun. 2024.

CUNHA, E. Q.; STONE, L. F.; FERREIRA, E. P. B.; DIDONET, A. D.; MOREIRA, J. A. A.; LEANDRO, W. M. Sistemas de preparo do solo e culturas de cobertura na produção orgânica de feijão e milho: II - atributos biológicos do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 2, p. 603-611, 2011.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Phosphatases in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 9, n. 3, p. 167-172, 1977.

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

FÖRSTNER, U.; SALOMONS, W. Trace metal analysis on polluted sediments. **Environmental Technology Letters**, v. 1, p. 494-505, 1981.

FRIEDEL J. K.; MOLTER, K.; FICHER, W. R. Comparison and improvement of methods for determining soil dehydrogenase activity by using triphenyltetrazolium chloride and idonitrotetrazolium chloride. **Biology and fertility of soils**, v. 4, p. 291-296, 1994.

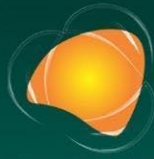
JAKELAITIS, A.; SILVA, A. A.; SANTOS, J. B.; VIVIAN, R. Qualidade da camada superficial de solo sob mata, pastagens e áreas cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n. 2, p.118-127, 2008.

KJERFVE, B.; RIBEIRO, C. H. A.; DIAS, G. T. M.; FILIPPO, A. M.; SILVA QUARESMA, V. Oceanographic characteristics of an impacted coastal bay: Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brazil. **Continental Shelf Research**, v. 17, n. 13, p. 1609-1643, 1997.

LINKOV, I.; SATTERSTROM, F. K.; KIKER, G.; BATCHELOR, C.; BRIDGES, T.; FERGUSON, E. From comparative risk assessment to multi-criteria decision analysis and adaptive management: Recent developments and applications. **Environment International**, v. 32, n. 8, p. 1072-1093, 2006

LUO, Z., MA, J. M.; ZHENG, S. L.; NAN, C. Z.; NIE, L. M. Different hydrodynamic conditions on the deposition of organic carbon in sediment of two reservoirs. **Hydrobiologia**, v. 765, p. 15-26, 2016.

MENDONÇA, E. D. S.; MATOS, E. D. S. **Matéria Orgânica do solo: métodos de análises**. Viçosa: UFV, 2005



**EXTREMOS CLIMÁTICOS: IMPACTOS ATUAIS E RISCOS FUTUROS**

NOGUEIRA, M. A.; MELO, W. J. Enxofre disponível para a soja e atividade da arilsulfase em solo tratado com gesso agrícola. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, N. 4, p. 655- 663, 2003.

PÔRTO, M. L.; ALVES, J. C.; DINIZ, A. A.; SOUZA, A. P.; SANTOS, D. Indicadores biológicos de qualidade do solo em diferentes sistemas de uso no Brejo Paraibano. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 1011-1017, 2009

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Arylsulphatase activity in soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, v. 34, p. 225-229, 1970.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. *In*: WEAVER, R. W.; SCOTT, A.; BOTTOMLEY, P., BEZDICEK, D.; SMITH, S., TABATABAI, A., WOLLUM, A. (eds.). **Methods of soil analysis Part 2: microbiological and biochemical properties**. Madison, Soil Science Society of America, 1994. p. 77-833.

URBANO, L. C.; CHAGAS, M. V. S.; RIBEIRO, A. F.; SOUZA, C. H. E.; GONÇALVES, R. C. Efeito da aplicação de fertilizantes nitrogenados sobre a atividade biológica no solo. *In*: CONGRESSO MINEIRO DE ENGENHARIAS E ARQUITETURA - CENAR STARTUPS E INOVAÇÃO. v. 1, n. 1, 2015, Patos de Minas. **Anais...** Patos de Minas: Revista CENAR, 2015.

USEPA. **Method 3051a**: microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. Washington, 2007. p. 1-30