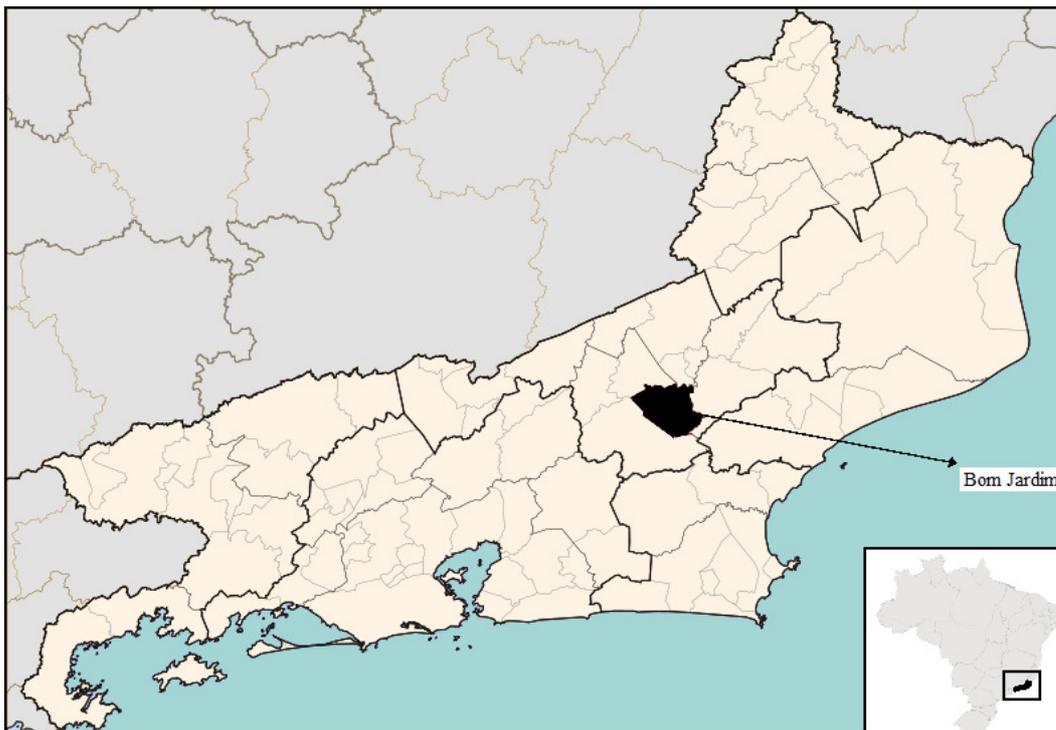


3 AREA DE ESTUDO

3.1. LOCALIZAÇÃO

A área de estudo está localizada no Estado do Rio de Janeiro, no município de Bom Jardim, no Sítio Cachoeira (proprietário Sr. Antônio Izaltino Tardin), com coordenadas geográficas 22° 09' 62" S e 42° 17' 14" W, altitude aproximada de 900 m. A Figura 3.1 indica a localização de Bom Jardim.

Figura 3.1 – Local de estudo.



A área é caracterizada como uma reserva da biosfera da Mata Atlântica (RBMA), na região Serrana do Estado do Rio de Janeiro. Esta região é representativa de áreas de altitude, diferenciando-se das demais pelo clima, geologia, geomorfologia, solos e vegetação. Está inserida na Bacia do Rio Paraíba

do Sul com relevo montanhoso podendo apresentar pequenos alinhamentos serranos e picos elevados.

A geomorfologia está enquadrada no Planalto da Serra dos Órgãos, representado pelo relevo de colinas e maciços costeiros. Apresenta uma litologia metamórfica e tipos de rocha predominantes como granito, gnaisse granitóide, migmatitos e associações, segundo FAPERJ (1980), citado por MENDES (2006).

As classes de solo de maior ocorrência nesta região são os ARGISSOLOS VERMELHO AMARELO, os LATOSSOLOS VERMELHO AMARELO e os CAMBISSOLOS, segundo Embrapa (1999), citado por MENDES (2006).

Este Planalto situa-se entre a Serra de Miguel Pereira e a Serra do Couto, a oeste, e a Serra do Desengano, a leste. De sul a norte, tem-se três unidades morfológicas distintas no Planalto Reverso da Região Serrana, ressaltando uma gradativa redução das amplitudes de relevo, em direção ao Vale do Paraíba entre as cidades de Petrópolis e Nova Friburgo, (MENDES, 2006).

A vegetação local tem predomínio da Floresta Ombrófila Densa. Os remanescentes da floresta montanhosa localizam-se entre a Serra do Mar e a Serra de Itatiaia com altitudes compreendidas entre 500 e 1500 metros.

Segundo Oliveira et al. (1995), citado por MENDES (2006), a grande maioria dos remanescentes da Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro são de matas secundárias, com idade variando entre 25 e 150 anos, alteradas pela atividade agropecuária ou exploração madeireira.

O clima é classificado como mesotérmico úmido, com temperaturas elevadas e bem distribuídas o ano todo e com precipitação média anual de 1400 mm, concentrados no verão.

A prática agrícola em Bom Jardim, assim como em toda a região serrana, está localizada nas encostas dos estreitos vales até as cabeceiras de drenagem. A característica topográfica de relevo montanhoso nas bacias hidrográficas e o intenso regime pluviométrico potencializam os processos erosivos, intensificando as perdas de solo, além do carreamento de agrotóxicos e de fertilizantes para os rios, causando poluição e contaminação ambiental (MENDES, 2006).

Os principais tipos de uso de solo são o cultivo rotacionado (inhame, batata, mandioca, milho e feijão) e o cultivo permanente, este com predomínio das culturas de café, de banana e do pousio florestal com variações de 3 a 5 anos onde há a regeneração da área pela mata nativa, ou com mais de 70 anos sem cultivo.

Nas áreas de cultivo desta região é bastante utilizado o Paraquat, por esta razão e também por ser nocivo tanto à saúde humana e como ao meio ambiente escolheu-se trabalhar com esse pesticida.

3.2. COLETA DE SOLO

As amostras de solo foram retiradas de três áreas distintas. A escolha foi efetuada de forma que pudessem representar um perfil superficial do solo local. Na parcela de cultivo de Banana retirou-se uma amostra representativa do horizonte A de um Cambissolo, intitulada de Área 1, de coloração preta. Em uma gleba, em que na época o cultivo era de feijão, observou-se duas colorações, em que a amostra representativa do horizonte B (Cambissolo) de coloração amarelada foi intitulada como Área 2 e a de coloração avermelhada, representativa do horizonte C (Cambissolo) foi intitulada de Área 3, como mostra a Figura 3.2.

Figura 3.2 – Amostragem de solo.



A amostragem foi feita o mais sub-superficial possível, contudo evitou-se a presença de raízes. Assim, a profundidade de coleta foi de aproximadamente 70 cm da superfície. Foram retiradas amostras tanto indeformadas como deformadas. As amostras deformadas foram removidas manualmente e acondicionadas em

sacos plásticos com devidas identificações. As amostras indeformadas compreenderam blocos de aproximadamente 20 x 20 x 20 cm, envoltos por filme de PVC, alumínio e parafina com respectivas identificações.

3.3. CARACTERIZAÇÃO DO SOLO

As características dos solos foram efetuadas por ensaios de caracterização geotécnica, análises físico-químicas, mineralógicas e microbiológicas.

3.3.1. Caracterização Geotécnica

Os ensaios de caracterização geotécnica foram realizados no Laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente da PUC-Rio, segundo normas da ABNT, compreendendo os ensaios de granulometria, de massa específica dos grãos e os limites de consistência (Limite de Liquidez e Limite de Plasticidade).

Os resultados da caracterização geotécnica estão dispostos na Tabela 3.1 e as curvas granulométricas no Gráfico 3.1.

Tabela 3.1 – Caracterização geotécnica dos solos.

Solo	G_s	GRANULOMETRIA								
		Ped (%)	Areia (%)			Silte (%)	Argila (%)	w_L (%)	w_P (%)	IP (%)
			Grossa	Média	Fina					
Área1	2.64	3.2	26.0	23.6	11.5	16.5	19.3	42.5	26.3	16.2
Área2	2.74	1.3	21.0	17.9	9.7	13.6	36.4	63.6	31.0	32.5
Área3	2.67	1.7	18.8	16.9	8.0	15.9	38.6	54.8	31.8	23.0

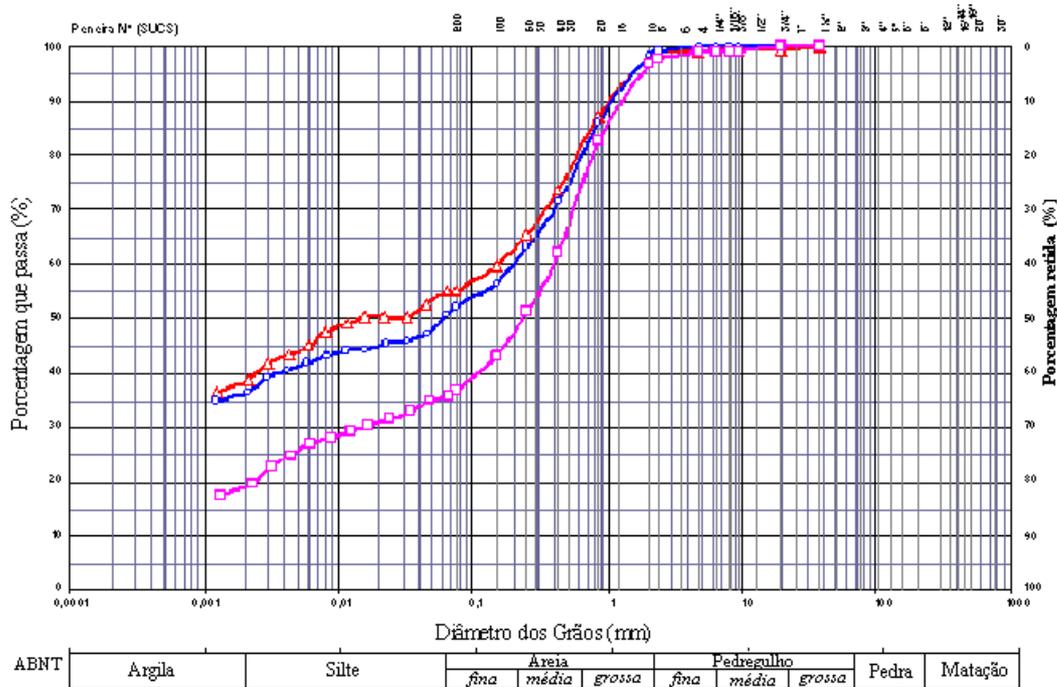
onde: G_s - densidade dos grãos; Ped - pedregulho; w_L - limite de liquidez, w_P - limite de plasticidade e IP - índice de plasticidade.

Nota-se que a Área 1 difere ligeiramente das demais áreas quanto à quantidade de pedregulho e de argila presentes.

A partir das curvas granulométricas, mostradas no Gráfico 3.1, as três amostras de solo foram classificadas, segundo a ABNT, como uma areia-argilosa

na Área 1, um solo argilo-arenoso na Área 2; argilo-arenoso na Área 3. Nota-se também que as distribuições granulométricas são bem próximas entre si, sendo quase idênticas para as Áreas 2 e 3.

Gráfico 3.1 – Caracterização Geotécnica das amostras de solo.



-Δ- Área1 cor-de-rosa; -o- Área2 cor azul; - - Área3 cor vermelha.

3.3.2. Caracterização Físico-Química

As análises físicas e químicas foram realizadas no Laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente da PUC-Rio e na Embrapa.

No Laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente foram realizados os ensaios de determinação de matéria orgânica por queima a 440°C e a 500°C, segundo a norma NBR-13600 com modificações da mesma, e de perda ao fogo a 600 °C e 1000 °C.

Na Embrapa foram realizadas as análises químicas de determinação do pH, teor de carbono orgânico, de elementos totais por ataque sulfúrico, complexo sortivo e capacidade de troca catiônica (CTC).

3.3.2.1. Teor de Matéria Orgânica

Na determinação do teor de matéria orgânica (M.O.) utilizou-se dois métodos: um quantitativo e outro químico.

O método quantitativo consiste na queima da matéria orgânica em altas temperaturas. Este método consiste em secar uma massa de solo em recipiente de porcelana (cadinho) em estufa de 105-110 °C por 24 horas até obtenção da constância de massa. Em seguida este material é levado à mufla em temperaturas que variam de 400 e 500 °C, por 6 horas, até a obtenção da constância de massa, como visto nos apontamentos de Torralba (2007) que seguem recomendações da norma NBR 13600. O teor de matéria orgânica é calculado pela diferença entre a massa do solo seco a 105 °C e a massa após queima de 400 ou 500 °C, dividida pela massa do solo seco a 105 °C e multiplicada por 100 para fins de cálculo em termos percentuais.

Neste método quantitativo, duas formas de execução do ensaio foram feitas, uma com o reuso e outra sem o reuso do material do cadinho. Sem reuso do material, isto é, o material que foi utilizado para a temperatura de 400 °C é descartado e um outro material é colocado no cadinho e levado a estufa de 105-110 °C e então levado a mufla, seguindo o procedimento completo até queimar por 6 horas a temperatura de 500 °C. Com reuso do material, isto é, após a retirada do material da temperatura de 400 °C e constância de massa, o mesmo material é posto para a temperatura de 500 °C, não seguindo o procedimento completo.

A Tabela 3.2 mostra o teor de matéria orgânica determinado pelo método quantitativo nas duas temperaturas testadas. A determinação do teor de matéria orgânica pelo método de queima (quantitativo) não apresentou diferença da quantidade entre os solos.

Tabela 3.2 – Teor de matéria orgânica pelo método quantitativo.

Solo	Teor de matéria orgânica	
	400 °C (%)	500°C (%)
Área1	3,0	3,1
Área2	2,2	2,6
Área3	3,0	3,6

No método químico a matéria orgânica sofre oxidação química por via úmida com dicromato de potássio em ácido sulfúrico. O dicromato de potássio não consumido nesta queima é titulado com solução de sulfato ferroso amoniacal e determinado o teor de carbono orgânico. O teor de matéria orgânica neste solo é determinado através da multiplicação do valor de teor orgânico por um fator de 1,724 (EMBRAPA, 1997).

Tabela 3.3 – Teor de carbono orgânico pelo método químico.

Solo	C _{orgânico} (g/kg)	N (g/kg)
Área1	9,3	1,2
Área2	2,7	0,4
Área3	5,3	0,7

Os dados resultantes da avaliação da matéria orgânica pelo método químico encontram-se na Tabela 3.3 e revelam que a Área 1 foi a que apresentou o maior teor de carbono orgânico, o que era de se esperar pela coloração preta que apresentava o solo, uma característica da presença de matéria orgânica.

Apesar das diferenças entre os valores obtidos pelos dois métodos, observa-se em ambos os casos que a Área 2 é a que apresenta menor teor de matéria orgânica, seguida da Área 3 e da Área 1 que apresentaram um maior teor da mesma.

3.3.2.2. Perda ao Fogo 600 e 1000 °C

A perda ao fogo é principalmente a determinação da água intercalada entre camadas (água interplanar), de coordenação e dos poros estruturais (zeolítica). Também quantifica a água de hidroxilas dos argilominerais e de hidróxidos existentes. Porém, compostos voláteis, como matéria orgânica, sulfetos, sulfatos e carbonatos também são perdidos e entram no cálculo da diferença de massa.

A metodologia para a determinação deste parâmetro é semelhante à utilizada para a quantificação do teor de matéria orgânica em mufla (quantitativo), descrito no item 3.3.2.1. Consiste em secar uma massa de solo em recipiente de

porcelana (cadinho) em estufa de 105-110 °C por 24 horas até obtenção da constância de massa. Em seguida esta massa seca é levada à mufla a temperatura de 600 e 1000 °C por 6 horas até obtenção da constância de massa. A quantificação é feita pela diferença de massa antes e após o aquecimento.

Assim como na determinação do teor de matéria orgânica, esta execução também foi procedida de forma a reutilizar ou não o material do cadinho.

Tabela 3.4 – Determinação da perda ao fogo.

Solo	600 °C (%)	600 r °C (%)	1000 °C (%)	1000 r °C (%)
Área1	4,1	4,8	6,6	5,4
Área2	5,0	4,9	5,8	6,1
Área3	5,7	4,8	7,0	5,4

As letras r ao lado das temperaturas de 600 e 1000 °C indicam o solo onde a queima foi feita com o reuso do solo após a exposição a 105 °C.

A Tabela 3.4 mostra os resultados da diferença da massa após a exposição a 600 e 1000 °C. Observa-se que a diferença dos resultados entre as três áreas trabalhadas é pequena para as duas temperaturas, mas que existe uma tendência para os valores de perda ao fogo aumentarem com o aumento da temperatura à qual o solo é exposto.

A perda ao fogo é um dos parâmetros que apresentam alta correlação com o grau de intemperismo do solo. Segundo Carvalho (2006) e Lopes (2006) os valores obtidos na Tabela 3.4 sugerem que as amostras de solo estudadas apresentam um alto grau de intemperismo.

3.3.2.3. Determinação do pH

A determinação do pH dos solos foi realizada em pHmetro em suspensão dos solos em água destilada e em solução aquosa saturada de KCl, ambos na proporção de 1:2,5. Os resultados encontram-se na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 – Determinação do pH.

Solo	pH (H ₂ O)	pH (KCl)	ΔpH
Área1	4,8	3,8	-1,0
Área2	5,1	4,0	-1,1
Área3	4,8	3,9	-0,9

A partir deste resultado, além de determinar a acidez ou alcalinidade dos solos, é possível classificar o solo quando à sua carga, ou seja, se este é eletropositivo, eletronegativo ou neutro. Esta classificação é feita pela variação do pH, relação esta mostrada na equação abaixo:

$$\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{KCl}} - \text{pH}_{\text{H}_2\text{O}} \quad (4.1)$$

Quando à variação do pH (ΔpH) for zero, o solo é dito como solo neutro; quando a variação do pH for menor que zero, o solo é dito como eletronegativo; e quando a variação for maior que zero, o solo é eletropositivo. Segundo os resultados obtidos todas as três amostras de solo utilizadas são eletronegativas.

3.3.2.4. Determinação de Elementos Totais

Foram determinados o teor de Al₂O₃, SiO₂, Fe₂O₃ e TiO₂, segundo Embrapa (1997), pelo método do ataque sulfúrico. Com base nestes valores foram calculadas as relações moleculares de K_i e K_r, como mostra a Tabela 3.6. Estes valores são indicadores do grau de intemperismo do solo. Quanto menores forem os valores de K_i e K_r mais intemperizado é o material.

Tabela 3.6 – Análise do ataque sulfúrico.

Solo	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	TiO ₂	P ₂ O ₅	MnO	K _i	K _r
Área1	98	84	35	5,0	1,0	0,7	1,98	1,58
Área2	130	131	48	6,4	0,7	0,3	1,69	1,36
Área3	128	136	53	7,0	0,7	0,3	1,60	1,28

Os valores de K_i e K_r obtidos experimentalmente (Tabela 3.6) indicam que os solos das três áreas estudadas apresentam um alto grau de intemperização.

3.3.2.5. Capacidade de Troca Catiônica

A capacidade de troca catiônica representa a propriedade do solo em reter cátions em superfície coloidal. A propriedade de adsorção catiônica é oriunda dos minerais de argila e M.O, que são partículas coloidais do solo que geram cargas elétricas negativas proporcionando a adsorção ou retenção dos íons positivamente carregados.

A capacidade de troca catiônica é gerada pelo resultado do complexo sortivo (Tabela 3.7), em que o valor de T, V e S são dados pelo número de bases trocáveis, e apresentados na Tabela 3.8. A unidade tanto do complexo sortivo quanto das bases trocáveis é de $\text{cmol}_c/\text{dm}^3$.

Tabela 3.7 – Análise do complexo sortivo.

Solo	Ca^{2+}	Mg^{2+}	K^+	Na^+	Al^{3+}	H^+
Área1	1,9	0,4	0,11	0,01	1,3	5,7
Área2	1,2	0,6	0,14	0,01	0,6	2,4
Área3	1,6	0,6	0,18	0,01	0,8	3,7

Tabela 3.8 – Bases trocáveis.

Solo	S	T	V
Área1	2,4	9,4	26
Área2	2,0	5,0	40
Área3	2,4	6,9	35

O valor de S é representado pela soma das bases Ca^+ , Mg^{2+} , K^+ e Na^+ , extraídas do solo, o de T é a soma do valor de S com os dos íons Al^{3+} e H^+ . O valor de V é obtido pela divisão do valor de S pelo de T, multiplicado por 100.

O CTC efetivo (CTC_e) é resultado da soma entre os valores de S e Al^{3+} (Galvão & Vahl, 1996). Já o CTC total do solo no pH 7 é dado pelo valor de T. A

Tabela 3.9 indica os valores de CTC para alguns materiais (Lopes & Guilherme, 2004).

A Tabela 3.9 apresenta valores de CTC para alguns materiais possibilitando comparar os valores de CTC encontrados com os apresentados, e assim podendo avaliar se o valor encontrado refere a qual tipo de componente.

Tabela 3.9 – CTC para alguns materiais.

Material	CTC (cmol/kg)
M. O. humificada	100 – 250
Vermiculita	100 – 150
Montmorilonita	80 – 120
Ilita	30 – 50
Clorita	10 – 40
Haloisita	5 – 10
Caulinita	3 – 15
Oxido de Fé e Al	2 – 5

Os valores de CTC total indicam que estas amostras utilizadas são de um solo de baixa capacidade de troca catiônica, podendo corresponder à uma caulinita.

3.3.2.6. Micronutrientes

Esta análise foi realizada na EMBRAPA-Solos, através dos Métodos de Extração com Mehlich-1 e com DTPA.

Tabela 3.10 – Método de Extração com Mehlich1.

Solo	Teor de íons (mg/dm³)			
	Cu	Fe	Mn	Zn
Área1	0,120	30,9	35,6	1,390
Área2	0,312	33,3	7,69	0,552
Área3	0,867	31,0	7,43	0,585

A quantidade de metais de Fe não mostrou diferença entre os solos tratados com este método de extração. Os teores de Cu, Mn e Zn apresentaram variação entre os solos das três áreas, que variam de 2,5 a 7,2 vezes. Os valores de Cu apresentaram maior variação percentual e os Mn maior variação de valores absoluta da quantidade encontrada.

Tabela 3.11 – Método de Extração com DTPA.

Solo	Teor de íons (mg/dm ³)			
	Cu	Fe	Mn	Zn
Área1	1,200	51,1	21,9	0,588
Área2	0,088	10,6	2,24	0,077
Área3	0,520	23,5	3,28	0,152

Os dados referentes aos valores dos metais medidos, obtidos pelo método de extração com DPTA não mostraram comportamentos semelhantes com o do método de extração com Mehlich1.

O Zn, elemento mais eletronegativo dos metais observados, foi o que apresentou uma menor variação da quantidade entre os solos e entre as duas técnicas de extração.

3.3.3. Determinação Mineralógica

A mineralogia do solo foi determinada através da difratometria de raio X e realizada no Laboratório de Difratometria de Raio-X do Departamento de Ciências dos Materiais e Metalurgia da PUC-Rio, utilizando um difratômetro da Marca Siemens, modelo D5000, com irradiações realizadas no intervalo de 2 a 30° (ângulo de incidência) com velocidade de varredura de 0,02° por segundo.

Os métodos utilizados foram os métodos do pó e do gotejamento. O primeiro foi usado para determinação da amostra total (material passante na peneira 40) e da fração silte (material passante na peneira 200). E o segundo foi usado para a determinação da fração argila (material passante pela peneira 400).

As amostras de solo deformado foram destorroadas e passadas nas peneiras descritas acima. No método do pó, o material passante tanto pela peneira

40 como 200 foi enviado para o Laboratório de Difractometria para a confecção da lâmina. Os Gráficos 3.2, 3.3, 3.4 e 3.5 mostram os resultados obtidos.

Gráfico 3.2 – Difração de raio X, método do pó, Área 1.

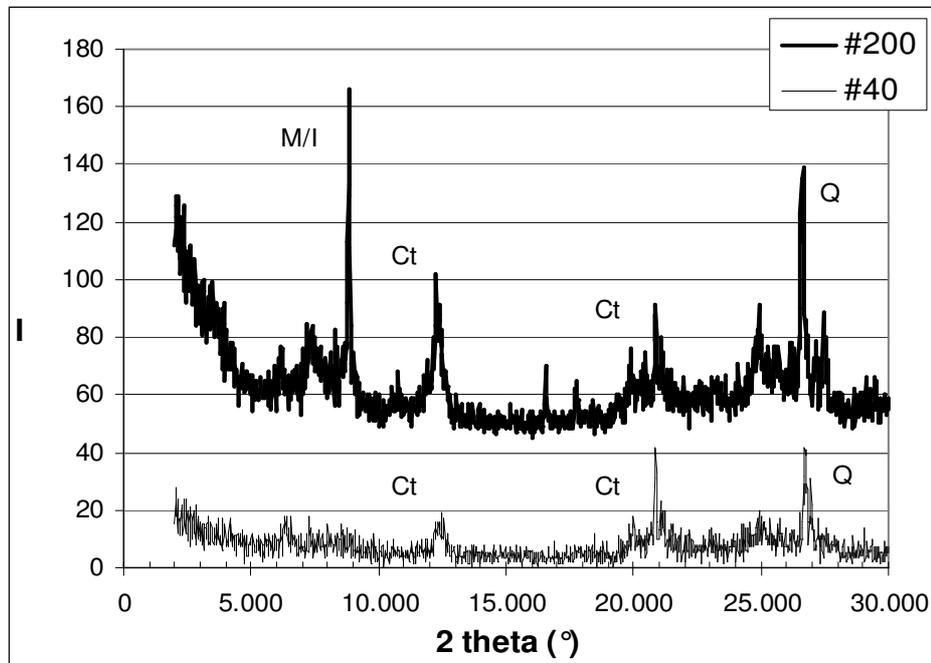


Gráfico 3.3 - Difração de raio X, método do pó, Área 2.

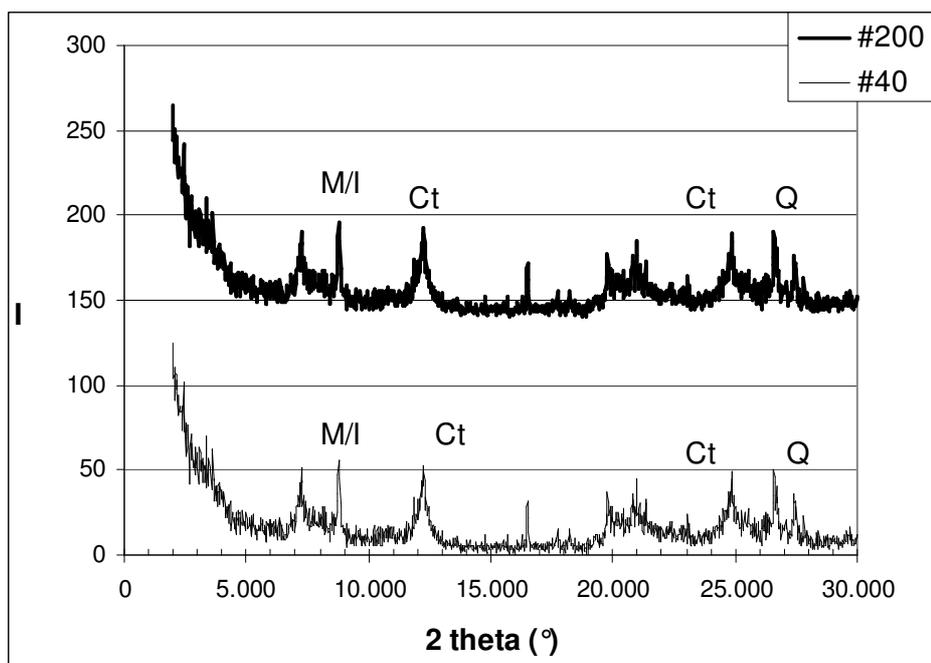


Gráfico 3.4 - Difração de raio X, método do pó # 40, Área 3.

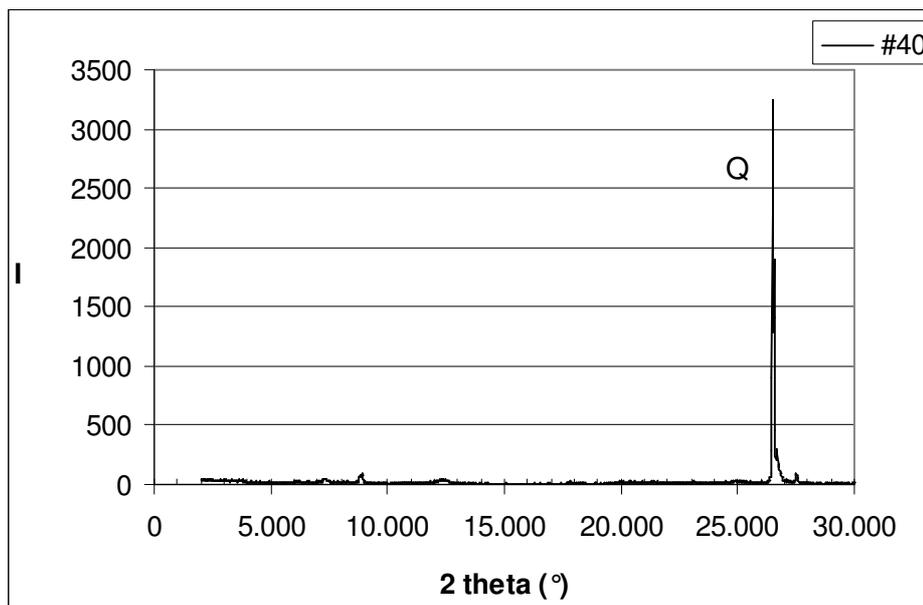
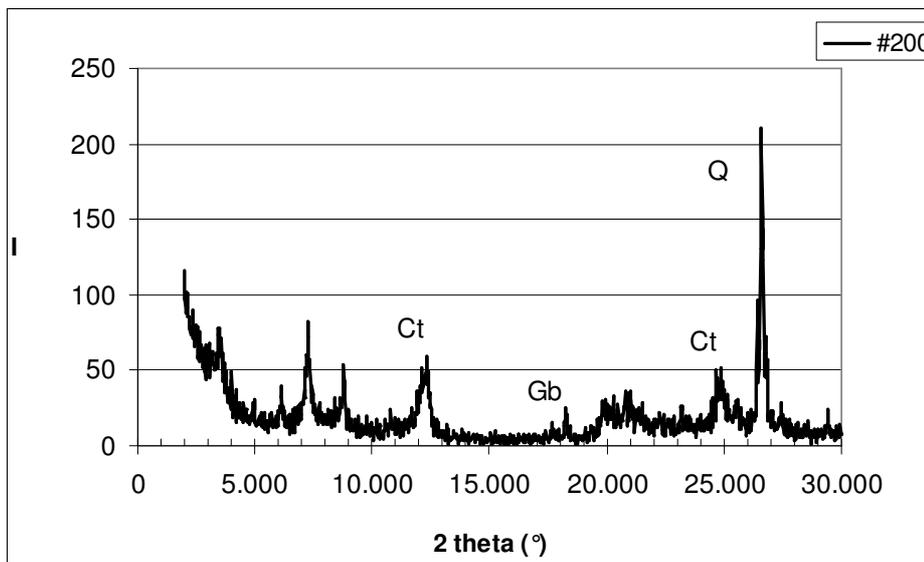


Gráfico 3.5 - Difração de raio X, método do pó # 200, Área 3.



No método do gotejamento o material passante pela peneira 400 foi colocado para hidratação por um período de no mínimo 24 horas. Então, com o auxílio de um conta-gotas, foi gotejado o material sobre uma lâmina de vidro. Após a secagem deste material, as lâminas que não possuíam nenhuma fissura foram levadas para análise no Laboratório de Difractometria. Estas constituíram o que chamamos de amostra natural.

Réplicas de placas preparadas por gotejamento foram também gicoladas. Para tal foi adicionado etileno-glicol à base das lâminas preparadas e estas foram incubadas em um dessecador com vácuo durante pelo menos 24 horas. Em seguida foram levadas imediatamente para análise por difratometria de raio X.

Outras réplicas de lâminas preparadas por gotejamento foram submetidas à temperatura de 440 °C em mufla por pelo menos 4 horas para, em seguida, serem analisadas por difratometria. Os resultados destes três tratamentos estão apresentados nos Gráficos 3.6, 3.7 e 3.8.

No segundo, a lâmina, que foi preparada conforme o método do gotejamento foi levada à mufla e submetida a uma temperatura de 550 °C por pelo menos 4 horas. Com isto, a lâmina pode ser levada para a análise de difratometria. Os gráficos abaixo mostram, também, os resultados do aquecimento da lâmina a 550 °C.

Gráfico 3.6 - Difração de raio X, método do gotejamento, Área 1.

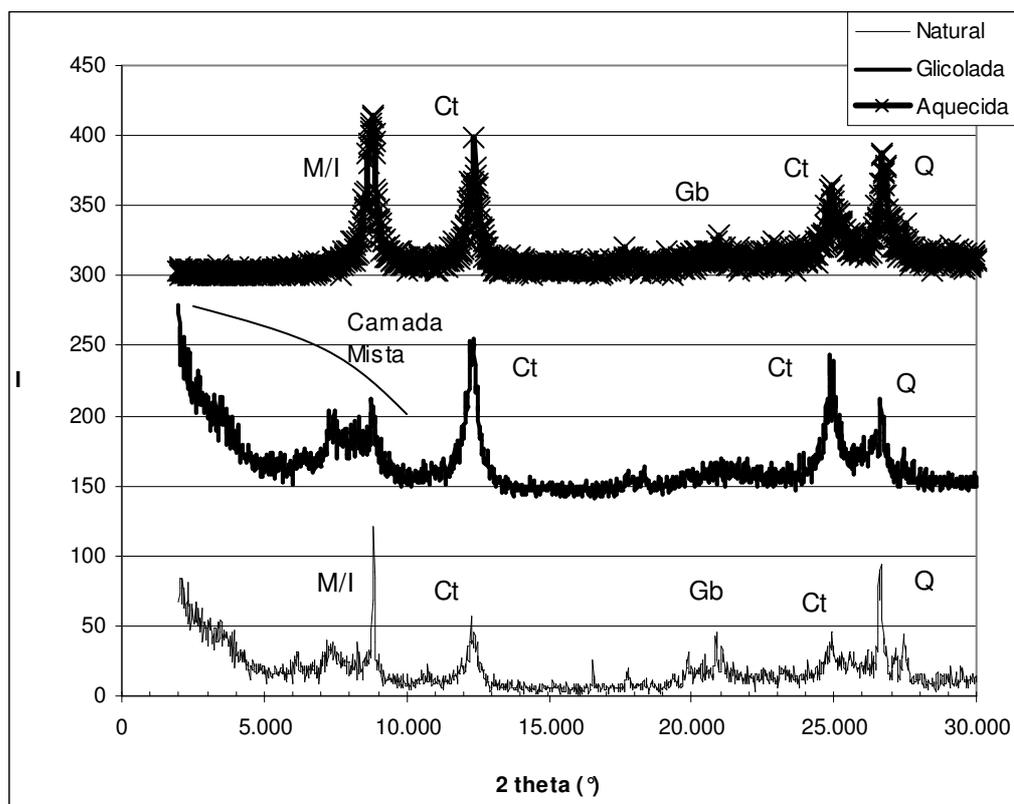


Gráfico 3.7 - Difração de raio X, método do gotejamento, Área 2

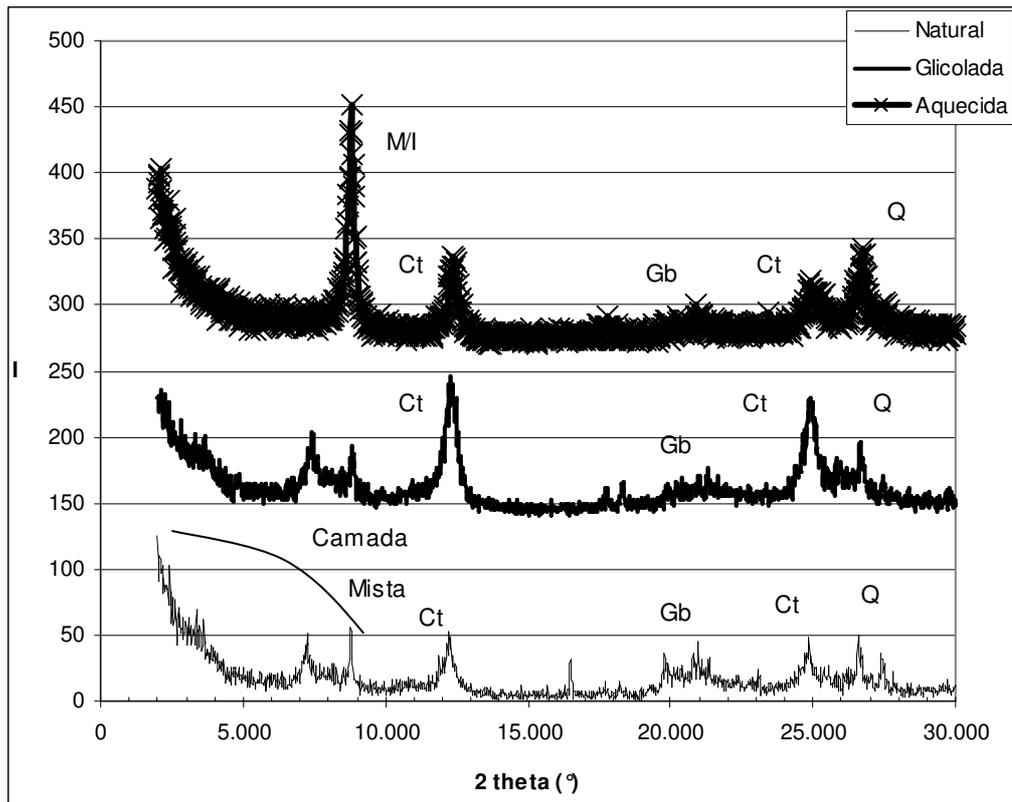
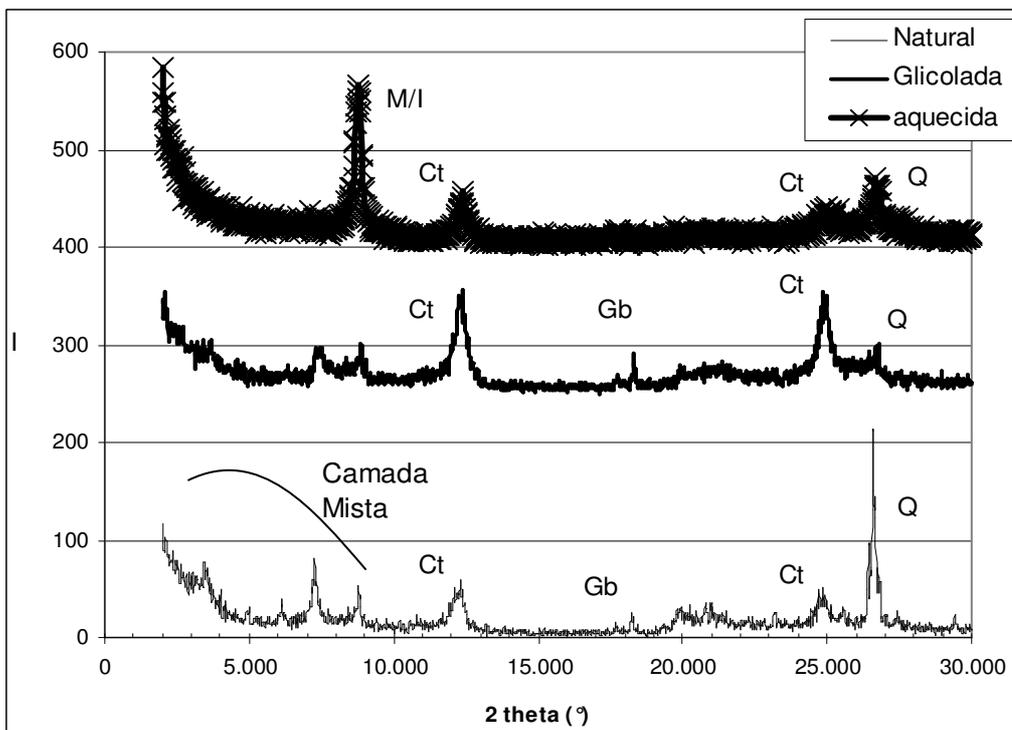


Gráfico 3.8 - Difração de raio X, método do gotejamento, Área 3.



Com o conjunto dos resultados de difratometria foi possível identificar a presença de quartzo (Q) e dos argilominerais caulinita (Ct), gibsitita (Gb) e uma camada mista. Pode-se observar nos gráficos a presença de Mica/Ilita não podendo definir qual argilomineral é exatamente, sendo possível apenas definir o grupo a qual pertence (grupo 10-11 Å). Outros picos foram observados. Contudo, mesmo com os tratamentos efetuados, não foi possível identificar o argilomineral, denominando, portanto, como camada mista.

O conjunto da caracterização química está condizente, pois todos os argilominerais identificados pela difratometria são de baixa atividade, baixo CTC e indicam alto grau de intemperismo.

3.3.4. Determinação de Aspectos Microbiológicos

Os ensaios de microbiologia foram realizados no Laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente da PUC-Rio, segundo o protocolo descrito por Oliveira (2006).

Para a execução dos ensaios de microbiologia, primeiramente foram utilizadas amostras de três áreas onde não havia sido aplicado o herbicida Paraquat. Este resultado serviu como controle para o ensaio que foi executado com as amostras contaminadas.

3.3.4.1. Determinação do Número de Bactérias e Fungos Viáveis e Cultiváveis

A determinação do número de bactérias heterotróficas e fungos viáveis e cultiváveis foram realizados através da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) em placas de petri com meio de cultura sólido, após diluições sucessivas. Foi utilizada a técnica de plaqueamento por derramamento em profundidade. Este ensaio consiste em diluir de forma sucessiva um grama de solo em tubos com água destilada ou tampão fosfato estéreis. Aliquotas de 0,1 mL de cada diluição escolhida são adicionadas à base das placas de petri estéreis e vazias (em triplicata). Sobre esta gota de suspensão de solo derrama-se meio de cultura específico, dependendo de cada tipo de microrganismo que se deseja cultivar, até que cubra o fundo da placa. Para o cultivo de bactérias heterotróficas foi utilizado meio de cultura Trypticase Soy Agar (TSA) a 10% e para o cultivo de fungos foi

usado o meio batata. Os meios de cultura deverão estar no estado sólido quando na temperatura ambiente, mas para serem derramados de forma líquida, são fundidos e mantidos dentro de erlenmeyers em banho-maria a aproximadamente 50 °C, temperatura que não causa mortandade da microbiota e o meio ainda se mantém em estado líquido. Em seguida as placas foram incubadas em estufa bacteriológica à temperatura de 30 °C por uma semana. Após este período as colônias de bactérias e fungos foram contadas.

Para a quantificação das UFCs foram utilizadas somente as placas com contagem entre 30 e 300 colônias, conforme determinado pelo método original.

A quantidade de colônias de bactérias no meio TSA para o controle é de 3,3E+6 bactérias por grama de solo úmido. Não foi possível obter contagem do número de fungos no solo nesta etapa.

3.3.4.2. Degradação Microbiana Total (FDA)

Esta metodologia foi desenvolvida para determinar a atividade microbiana degradadora total do solo, através da hidrólise do Diacetato de Fluoresceína (FDA). As esterases são enzimas que degradam lipídeos em geral por reconhecerem uma ligação éster presentes nestas moléculas. Estas enzimas são capazes de reconhecer este mesmo tipo de ligação presente no diacetato de fluoresceína utilizado como substrato neste procedimento. O diacetato de fluoresceína não apresenta coloração quando em solução, mas ao ser clivado, o que ocorre se no meio testado existirem enzimas ativas, há liberação de fluoresceína, molécula que, quando livre, apresenta uma cor amarelo-esverdeada, que responde à absorção em um comprimento de onda de 490 nm. Para a realização deste teste 2 gramas de solo úmido e fresco são colocadas em erlenmeyer de 250 mL e a esta amostra é adicionada uma solução de diacetato de fluoresceína em tampão fosfato. Em seguida a mistura é incubada em banho-maria a 30 °C por 20 minutos, após os quais a reação é interrompida com uma mistura de clorofórmio/metanol 2:1. A solução é então filtrada e a fase aquosa é colocada em cubeta para proceder a leitura em espectrofotômetro a 490 nm. Todo ensaio é conduzido em triplicata. As concentrações de fluoresceína são calculadas a partir de curva de calibração com solução de fluoresceína.

Com o controle foram utilizadas amostras de solo do local sem tratamento com Paraquat. A atividade degradadora microbiana total média obtida deste solo “controle” foi de 74,55 μg de fluoresceína por grama de solo úmido.