



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE  
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA  
(ILACVN)**

**BIOTECNOLOGIA – BACHARELADO**

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA APLICABILIDADE DE BIOINDICADORES NA  
QUALIDADE DO SOLO**

**ARIANA MICHELLE CAMPOS VIERA**

Foz do Iguaçu  
2025

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA APLICABILIDADE DE BIOINDICADORES NA  
QUALIDADE DO SOLO**

**ARIANA MICHELLE CAMPOS VIERA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos


Foz do Iguaçu  
2025

ARIANA MICHELLE CAMPOS VIERA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA APLICABILIDADE DE BIOINDICADORES NA  
QUALIDADE DO SOLO**


Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Instituto Latino-Americano  
de Ciências da Vida e da Natureza da  
Universidade Federal da Integração  
Latino-Americana, como requisito parcial à  
obtenção do título de Bacharel em  
Biotecnologia

**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 **RAFAELLA COSTA BONUGLI SANTOS**  
Data: 21/03/2025 13:30:08-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Orientador: Prof. Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos  
UNILA

Documento assinado digitalmente  
 **MICHEL RODRIGO ZAMBRANO PASSARINI**  
Data: 21/03/2025 16:46:32-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Michel Rodrigo Zambrano Passarini  
UNILA

Documento assinado digitalmente  
 **SAMUEL HENRIQUE KAMPHORST**  
Data: 21/03/2025 17:56:30-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Samuel Henrique Kamphorst  
UENF

Foz do Iguaçu, 12 de março de 2025.

Dedico este trabalho aos meus pais, Marcia Yesenia Viera Sorto e Christian Campos Castro, por serem meu apoio incondicional e a força que me impulsiona a realizar todos os meus sonhos. E ao melhor companheiro de vida, meu irmão Christian Javier Campos Viera, por sempre me oferecer o melhor de si e ser minha inspiração diária.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA) pela oportunidade de realizar minha graduação no curso dos meus sonhos.

À minha família, por me oferecer todo o apoio necessário ao longo desta jornada acadêmica e por estar sempre ao meu lado, impulsionando-me em cada etapa da minha vida.

À minha família, constituída em Foz do Iguaçu, por ser a minha base, o meu refúgio e por sempre me oferecer muito amor, alegria e apoio incondicional.

Agradeço também à Luna e à Noa, minhas companheiras, por encherem meus dias de alegria e carinho e por estarem sempre ao meu lado, mesmo nos momentos mais desafiadores.

À minha professora orientadora, Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos, por sua orientação e suporte inestimáveis.

A todos os professores com os quais tive o privilégio de cursar disciplinas, pois, graças a eles, adquiri o conhecimento que hoje carrego comigo.

Por fim, expresso minha gratidão, pois o presente trabalho foi realizado com o apoio da Universidade Federal da Integração Latino-Americana – Brasil (UNILA).

*Ama-se mais o que se conquista com esforço.*  
**Benjamin Disraeli**

## RESUMO

A qualidade do solo é um conceito fundamental que tem ganhado destaque devido aos intensos processos de degradação que afetam esse recurso natural. Assim, considerando que cerca da metade dos solos habitáveis do mundo são destinados à agricultura, a avaliação da sua qualidade torna-se imprescindível. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica abrangente para selecionar e avaliar, *in vitro*, a aplicabilidade de bioindicadores na qualidade do solo. Para isso, foram selecionadas as atividades enzimáticas de arilsulfatase e da betaglicosidase como bioindicadores, devido à sua especificidade e sensibilidade na detecção de alterações no solo. No estudo, foram utilizadas quatro amostras de solo coletadas de um projeto em andamento do grupo de pesquisa, intitulado “Desenvolvimento de Inoculante para Biorremediação de Solos Agrícolas Baseado na Associação de Fungos e Carvão Ativado”. Dessa forma, especificamente, os tratamentos avaliados neste trabalho consistiram em amostras do cultivo de soja em unidades experimentais, compostas por: solo (controle); solo com atrazina; solo com atrazina e bioinoculante fúngico; e solo com atrazina e biochar (carvão ativado); em dois tempo do crescimento vegetal: na semeadura (T0); e estágio V1, quando a primeira folha trifoliolada estava completamente desenvolvida (T1). Sendo que, a qualidade do solo foi avaliada por meio de um estudo de atividade enzimática comparativa a partir da avaliação espectrofotométrica das enzimas usando os substratos p-nitrofenil sulfato de potássio (PNS) e p-nitrofenil β-D-glicosídeo (PNG) para arilsulfatase e da betaglicosidase, respectivamente. Os resultados mais relevantes demonstraram que a atividade da arilsulfatase apresentou variações entre os dois tempos analisados, com valores observados mais altos no T1 em relação ao T0. Os tratamentos que incorporaram a atrazina apresentaram maior atividade enzimática quando comparados ao controle, sugerindo que a presença desse composto estimulou a atividade microbiana do solo para arilsulfatase. Em adição, o tratamento composto por solo, atrazina e bioinoculante apresentou também valores altos de arilsulfatase, indicando um efeito benéfico do bioinoculante na detecção enzimática. Em relação à betaglicosidase, sua atividade enzimática foi detectada apenas na amostra de solo coletada no T0, uma vez que as demais amostras estavam fora do intervalo de detecção, o que impossibilitou a obtenção de resultados precisos. Considerando que, o presente estudo não teve como objetivo avaliar a eficiência dos tratamentos, mas sim investigar se as análises enzimáticas são consistentes com as condições do solo, conclui-se que os bioindicadores enzimáticos podem ser empregados para analisar a qualidade do solo, pois oferecem avaliações mais integradas e sensíveis, refletindo de forma mais precisa as condições do solo. Potencial que é especialmente notável para a arilsulfatase. Contudo, recomenda-se a realização de análises conjugadas que considerem outros atributos, como a matéria orgânica e as comunidades microbianas, para uma definição mais precisa da qualidade.

**Palavras-chave:** qualidade do solo; bioindicadores; atividade enzimática; arilsulfatase; betaglicosidase.

## RESUMEN

La calidad del suelo es un concepto fundamental que ha cobrado relevancia debido a los intensos procesos de degradación que afectan a este recurso natural. Así, teniendo en cuenta que, alrededor de la mitad de los suelos habitables en el mundo son destinados a la agricultura, resulta esencial evaluar su calidad. En ese sentido, el presente trabajo tuvo como objetivo realizar una revisión bibliográfica exhaustiva para seleccionar y evaluar *in vitro* la aplicabilidad de bioindicadores en la calidad del suelo. Para ello, fueron seleccionadas las actividades enzimáticas de arilsulfatasa y de betaglicosidasa como bioindicadores, debido a su especificidad y sensibilidad en la detección de alteraciones en el suelo. En el estudio, fueron utilizadas cuatro muestras de suelo recolectadas de un proyecto en curso del grupo de investigación, titulado “Desarrollo de Inoculante para la Biorremediación de Suelos Agrícolas Basado en la Asociación de Hongos y Carbón Activado”. De esa forma, específicamente, los tratamientos evaluados en este trabajo consistieron en muestras de cultivo de soja en unidades experimentales, compuestas por: suelo (control); suelo con atrazina; suelo con atrazina y bioinoculante fúngico; y suelo con atrazina y biochar (carbón activado); en dos fases de crecimiento vegetal: en la siembra (T0); y fase V1 cuando la primera hoja trifoliada estaba completamente desarrollada (T1). Siendo que, la calidad del suelo fue evaluada mediante un estudio de actividad enzimática comparativo a partir de una evaluación espectrofotométrica de las enzimas utilizando los sustratos p-nitrofenil sulfato de potasio (PNS) y p-nitrofenil  $\beta$ -D-glucósido (PNG) para arilsulfatasa y betaglicosidasa, respectivamente. Los resultados más relevantes demostraron que la actividad de arilsulfatasa presentó variaciones entre las dos fases analizadas, con valores observados más altos en T1 en comparación con T0. Los tratamientos que incorporaron atrazina mostraron aumentos de actividad enzimática cuando fueron comparados con el control, sugiriendo así que la presencia de ese compuesto estimuló la actividad microbiana del suelo para arilsulfatasa. Además, el tratamiento compuesto por suelo, atrazina y bioinoculante también presentó valores elevados de arilsulfatasa, indicando un efecto benéfico del bioinoculante sobre la detección enzimática. En cuanto a la betaglicosidasa, su actividad enzimática fue detectada solamente en la muestra de suelo recolectada en T0, ya que las demás muestras estaban fuera del intervalo de detección, lo que impidió la obtención de resultados precisos. Considerando que, el presente estudio no tenía como objetivo evaluar la eficiencia de los tratamientos, sino investigar si las evaluaciones enzimáticas eran coherentes con las condiciones del suelo, se puede concluir que los bioindicadores enzimáticos pueden utilizarse para analizar la calidad del suelo, ya que ofrecen evaluaciones más integradas y sensibles, que reflejan de forma más precisa las condiciones del suelo. Potencial que es especialmente notable para arilsulfatasa. No obstante, se recomienda realizar análisis combinados que consideren otros atributos, como la materia orgánica y las comunidades microbianas, para una definición más precisa de la calidad.

**Palabras-clave:** calidad del suelo; bioindicadores; actividad enzimática; arilsulfatasa; betaglicosidasa.

## ABSTRACT

Soil quality is a fundamental concept that has emerged as a response to the significant degradation processes that affect this natural resource. Given that approximately half of the world's habitable soils are used for agriculture, assessing their quality becomes essential. In this context, the present study aimed to conduct a comprehensive literature review to select and evaluate, *in vitro*, the applicability of bioindicators for soil quality assessment. For this purpose, the enzymatic activities of arylsulfatase and betaglucosidase were selected as bioindicators due to their specificity and sensitivity in detecting soil changes. In the study, four samples were collected from an ongoing project of the research group entitled "Development of an Inoculant for Bioremediation of Agricultural Soils Based on the Association of Fungi and Activated Carbon". Specifically, the treatments evaluated in this work consisted of soybean crop samples cultivation in experimental units, composed of: soil (control); soil with atrazine; soil with atrazine and fungal bioinoculant; and soil with atrazine and biochar (activated carbon); at two stages of plant growth: at sowing (T0); and at stage V1, when the first trifoliolate leaf was fully developed (T1). The quality of the soil was assessed by a comparative enzyme activity study based on the spectrophotometric evaluation of the enzymes using the substrates potassium p-nitrophenyl sulfate (PNS) and p-nitrophenyl  $\beta$ -D-glucoside (PNG) for arylsulfatase and beta-glucosidase, respectively. The most relevant results indicated that arylsulfatase activity exhibited variations between the two analyzed periods, with a tendency to increase at T1 compared to T0. The treatments that contained atrazine showed increases in enzyme activity when compared to the control, suggesting that the presence of this compound stimulated the soil's microbial activity for this enzyme. Furthermore, the treatment combined soil, atrazine and bioinoculant also demonstrated high arylsulfatase activity, indicating a beneficial effect of the bioinoculant on enzyme detection. In contrast, betaglucosidase activity was only detected in the soil sample collected at T0, as the other samples were outside the detection range, which made it impossible to obtain accurate results for this enzyme. Considering that the aim of this study was not to evaluate the efficiency of the treatments, but rather to investigate whether the enzymatic analyses are consistent with soil conditions, it can be concluded that enzymatic bioindicators can be used to analyze soil quality, as they provide more integrated and sensitive evaluations, reflecting soil conditions more accurately. This potential is especially notable for arylsulfatase. However, it is recommended to conduct combined analyses that consider additional attributes, such as organic matter content and the microbial community, for a more precise definition of quality.

**Key words:** soil quality; bioindicators; enzymatic activity; arylsulfatase; betaglucosidase.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Horizontes do solo.....	23
<b>Figura 2</b> – Mapa de solos do Brasil.....	24
<b>Figura 3</b> – Comparação entre um solo saudável e um solo degradado.....	27
<b>Figura 4</b> – Mapa experimental do croqui de campo utilizado para as coletas.....	39
<b>Figura 5</b> – Esquema dos cinco pontos de coleta realizados nas unidades experimentais pertencentes à réplica A no tempo zero (T0).....	40

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> – Uso aproximado do solo para agricultura em hectares (ha), combinando terras de cultivo e pastagens, de 1979 a 2023 em alguns países da LATAM.....	25
<b>Gráfico 2</b> – Valores de atividade de arilsulfatase nos quatro tratamentos, coletados a uma profundidade de 20 cm, entre dezembro de 2024 e janeiro de 2025.....	54
<b>Gráfico 3</b> – Análise combinada da curva de calibração com as absorbâncias obtidas para cada amostra analisada no tempo zero (T0), referente à atividade de betaglicosidase.....	57
<b>Gráfico 4</b> – Análise combinada da curva de calibração com as absorbâncias obtidas para cada amostra analisada no tempo um (T1), referente à atividade de betaglicosidase.....	58

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> – Materiais, equipamentos e reagentes que serão empregados nos procedimentos experimentais.....	37
<b>Quadro 2</b> – Informações das coletas realizadas e condições observadas.....	41
<b>Quadro 3</b> – Quantidades de reagentes e soluções para a determinação da atividade enzimática de arilsulfatase e betaglicosidase.....	42
<b>Quadro 4</b> – Visão geral das principais enzimas estudadas no solo.....	50

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Volumes de reagentes e soluções utilizadas para obtenção da curva de calibração de arilsulfatase e betaglicosidase.....	43
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BMS	Biomassa Microbiana do Solo
Ca	Cálcio
C-BMS	Carbono da Biomassa Microbiana do Solo
CCMIBA	Coleção de Cultura de Micro-organismos de Importância Biotecnológica e Ambiental
CE	Condutividade Elétrica
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
COT	Carbono Orgânico Total
CRA	Capacidade de Retenção de Água
CTC	Capacidade de Troca de Cátions
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
H + Al	Hidrogênio e alumínio trocável
ILACVN	Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza
ILP	Integração lavoura-pecuária
ILPF	Integração lavoura-pecuária-floresta
IQS	Índice de Qualidade do Solo
K	Potássio
LATAM	América Latina
Mg	Magnésio
MO	Matéria Orgânica
MOS	Matéria Orgânica do Solo
MUB	Modified Universal Buffer
N	Nitrogênio
P	Fósforo
pH	Potencial de Hidrogênio
PNF	Solução padrão de p-nitrofenol
PNG	Solução de p-nitrofenil-β-D-glucosídio
PNS	Solução de p-nitrofenil sulfato de potássio
qMIC	Quociente Microbiano
QS	Qualidade do Solo
S	Enxofre
SciELO	Scientific Electronic Library Online

SGS	Société Générale de Surveillance
SiBCS	Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos
SPD	Sistema de Plantio Direto
SSSA	Soil Science Society of América
UNILA	Universidade Federal da Integração Latino-Americana
USDA	United States Department of Agriculture

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>18</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>20</b>
2.1 SOLO.....	20
2.1.1 Propriedades do Solo.....	21
2.1.2 Produção Agrícola e o Potencial de Degradação do Solo.....	25
2.2 QUALIDADE DO SOLO.....	27
2.3 INDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO.....	28
2.3.1 Indicadores Físicos.....	29
2.3.2 Indicadores Químicos.....	30
2.3.3 Indicadores Biológicos.....	30
2.4 BIOANÁLISE DO SOLO.....	32
2.4.1 Índices de Qualidade do Solo.....	34
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>36</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	36
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>37</b>
4.1 MATERIAIS.....	37
4.2 METODOLOGIA.....	38
4.2.1 Levantamento Bibliográfico.....	38
4.2.2 Coleta das Amostras de Solo.....	38
4.2.3 Processamento das Amostras de Solo.....	41
4.2.4 Determinação da Atividade Enzimática de Arilsulfatase e de Betaglicosidase.....	41
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>44</b>
5.1 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO: BIOINDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO.....	44
5.1.1 Biomassa Microbiana.....	45
5.1.2 Respiração Basal.....	46
5.1.3 Quociente Metabólico.....	47
5.1.4 Quociente Microbiano.....	47
5.1.5 Atividade Enzimática do Solo.....	48
5.1.5.1 Principais enzimas relacionadas à atividade enzimática do solo... 49	
5.1.5.2 Técnicas de detecção de atividade enzimática.....	52
5.2 SELEÇÃO DE BIOINDICADORES.....	53
5.3 AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE ARILSULFATASE E DE BETAGLICOSIDASE.....	54
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>60</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>62</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>73</b>
APÊNDICE A – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO: DETERMINAÇÃO	

ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA ARILSULFATASE.....	73
APÊNDICE B – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO: DETERMINAÇÃO ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE BETAGLICOSIDASE.....	74
APÊNDICE C – CURVA DE CALIBRAÇÃO OBTIDA PARA AS ANÁLISES DE ARILSULFATASE NO TEMPO ZERO (T0).....	75
APÊNDICE D – CURVA DE CALIBRAÇÃO OBTIDA PARA AS ANÁLISES DE ARILSULFATASE NO TEMPO UM (T1).....	76
APÊNDICE E – CURVA DE CALIBRAÇÃO OBTIDA PARA AS ANÁLISES DE BETAGLICOSIDASE NO TEMPO ZERO (T0).....	77
APÊNDICE F – CURVA DE CALIBRAÇÃO OBTIDA PARA AS ANÁLISES DE BETAGLICOSIDASE NO TEMPO UM (T1).....	78

## 1. INTRODUÇÃO

Ao longo da história da humanidade, o solo tem sido descrito como o substrato e/ou camada essencial para o desenvolvimento da vida vegetal e animal, incluindo os seres humanos, desempenhando um papel fundamental como suporte para todos os seres vivos que habitam a Terra (SANTANA e BAHIA FILHO, 1999). A relação direta do solo com diversas áreas é crucial; nos ecossistemas, por exemplo, ele desempenha um papel significativo na manutenção de processos ecológicos, como a regulação do clima e o suporte à biodiversidade. Da mesma forma, sua relação com a produção alimentar é vital, pois o solo é um elemento primordial que sustenta e enriquece a agricultura (BRITO, 2021; LEAL, LEÃO e FREITAS, 2015; MELO *et al.*, 2019). Contudo, a degradação desse recurso tem dificultado sua preservação, tornando a qualidade do solo um fator central para a sustentabilidade e a segurança alimentar (BENZAZZI e LEITE, 2021).

De conformidade com Vezzani e Mielniczuk (2009), realizar análises de qualidade do solo é uma das principais estratégias atuais na área agrícola, para a construção de solos cada vez mais saudáveis com o objetivo de aumentar a produtividade e garantir colheitas mais abundantes e sustentáveis. Cujas consciências da importância estão crescendo ao redor do mundo, o que tem impulsionado a um aumento na pesquisa sobre as distintas formas de avaliar este recurso. Sendo que, hoje em dia, a qualidade do solo é mensurada por diferentes indicadores (ARAÚJO e MONTEIRO, 2007; ARAÚJO *et al.*, 2012; JACTO, 2019).

Caracteristicamente, diversos métodos tradicionais são utilizados para avaliar a qualidade do solo, incluindo análises físico-químicas, que fornecem informações sobre características como pH, textura e nutrientes disponíveis (MAURYA *et al.*, 2020). No entanto, apesar do avanço das técnicas de análise físico-químicas, muitos métodos ainda não capturam completamente as complexas interações biológicas. Diante dessa situação, o uso de bioindicadores apresenta-se como uma solução para superar essas limitações, ao oferecer avaliações mais integradas e sensíveis que refletem de forma mais precisa as condições do solo (MILLER e DICK, 1995; MENDES, SOUSA e REIS JÚNIOR 2015; MENDES *et al.*, 2018).

Em virtude disso, distintos estudos têm demonstrado que a atividade enzimática como bioindicador é uma ferramenta importante para a caracterização e

avaliação da qualidade do solo (ALKORTA *et al.*, 2003; BALOTA, *et al.*, 2004). Pontualmente, nos últimos cinco anos, o Brasil tem-se destacado como um pioneiro ao utilizar dados sobre a atividade das enzimas arilsulfatase e betaglicosidase como bioindicadores, relacionando essas atividades com o potencial produtivo, a sustentabilidade e a fertilidade dos solos (MENDES *et al.*, 2020). Dessa forma, pode-se evidenciar que a mensuração das atividades enzimáticas é importante porque no solo as enzimas desempenham papéis cruciais na dinâmica biológica, como na decomposição de matéria orgânica, na liberação de nutrientes e na regulação de processos biogeoquímicos. Dados que a sua vez podem fornecer informações valiosas sobre a produtividade ou degradação do solo, ao avaliar a atividade microbiana, os ciclos de nutrientes, a resposta a perturbações, o monitoramento de práticas de manejo e o impacto ambiental (BURNS e DICK, 2002; RAO *et al.*, 2014).

Desse modo, no presente Trabalho de Conclusão de Curso realizou-se uma revisão bibliográfica abrangente sobre bioindicadores, com o objetivo de selecionar e avaliar *in vitro* sua aplicabilidade em diferentes amostras de solo. Para isso, foram utilizados quatro tratamentos de solo com perfis diferenciados, coletados em duas fases distintas de tempo e desenvolvimento, obtidos a partir do cultivo de soja em unidades experimentais. Assim, em cada tratamento, foi testada a atividade enzimática de arilsulfatase e de betaglicosidase, cujo propósito foi contribuir para o entendimento dos bioindicadores e suas relações com a qualidade do solo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 SOLO

A conceitualização de solo varia significativamente, e sua definição evolui ao longo do tempo, refletindo a diversidade de perspectivas e conhecimentos sobre seu uso, características e distribuição. Dado isso, segundo Jaramillo (2002), o solo pode ser entendido como uma camada superficial da Terra, com espessura que varia de alguns centímetros a alguns metros, composta por material não consolidado, que se forma na interface entre a atmosfera, a biosfera e a litosfera, onde ocorrem interações dinâmicas entre os elementos dessas esferas, promovendo trocas de materiais e energia entre os componentes orgânicos e inorgânicos, resultando em um sistema de grande complexidade.

No entanto, de acordo com Van Es (2017), a Sociedade Americana de Ciência do Solo (SSSA) descreve o solo como camadas de materiais minerais e/ou orgânicos frequentemente desagregadas, sujeitas à influência de processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem na superfície planetária, de forma que nessas camadas são encontrados líquidos, gases, biota e plantas de suporte.

Enquanto, o Sistema Brasileiro de Classificação do Solo (SiBCS) propõe a definição de solo como um corpo natural tridimensional e dinâmico, formado por materiais minerais e orgânicos, que contém partes sólidas, líquidas e gasosas, sendo um recurso capaz de abrigar vida, sustentar vegetação e sofrer modificações decorrentes da interferência humana (SANTOS *et al.*, 2018).

Entretanto, independentemente das diferentes definições de solo, sua importância permanece essencialmente constante, refletindo, por exemplo, seu papel fundamental no sustento da vida e dos ecossistemas. Sendo que, especialmente na agricultura, sua importância é indiscutível, uma vez que se trata de um recurso que desempenha um papel crucial para o sucesso das atividades agrícolas. Importância que se deve majoritariamente a sua composição, já que o solo carrega nutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas, como nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre (FOTH, 1990; IBAÑES, PALOMEQUE e FONTÚRBEL, 2004; JONES, 2012), que são vitais para a ocorrência de diferentes processos biológicos que mantêm a fertilidade e garantem a produtividade de diversas culturas.

Em vista disso, é relevante salientar que estima-se que 95 % dos alimentos são produzidos direta ou indiretamente nos solos, e que seu manejo sustentável poderia aumentar a produção de alimentos em até um 58 % (FAO, 2015). Sendo que, o manejo adequado dos solos é entendido como o conjunto de práticas que visam conservar e melhorar sua qualidade, incluindo medidas como rotação de culturas, uso equilibrado de fertilizantes, herbicidas e pesticidas, além da prevenção da erosão (FAO, 2017; LEIVA, 1998). Por esse motivo, o manejo adequado e a preservação dos solos são tarefas fundamentais, intrinsecamente ligadas a aspectos como a segurança alimentar das populações e, principalmente, ao futuro da agricultura sustentável.

### 2.1.1 Propriedades do Solo

O solo, sendo um dos principais compartimentos da biosfera em termos de reservatório biológico, além de funcionar como um importante reservatório de água e suporte essencial para o sistema agrícola e atividades humanas, é caracterizado por possuir determinadas propriedades que variam conforme sua composição e uso. Segundo a CETESB ([s.d.]), essas propriedades são influenciadas pelo processo geológico de sua formação, pela origem dos minerais que o compõem e pela sua evolução em resposta ao clima e ao relevo da região, bem como pelos organismos vivos que nele residem. Dado isso, entre as principais propriedades do solo, destacam-se as físicas, químicas e biológicas.

No que diz respeito às propriedades físicas do solo, pode-se mencionar que elas desempenham um papel fundamental no desenvolvimento saudável das plantas, determinando a ocorrência e o crescimento de diversas espécies, além de proporcionarem o suporte e a funcionalidade necessários. Dessa forma, propriedades físicas como, textura, composição granulométrica, estrutura e seus agregados, cor, porosidade, densidade, consistência, ar e temperatura estão estreitamente associadas a diversos aspectos, como a rigidez, a força de sustentação, a facilidade de penetração das raízes, a aeração, a capacidade de drenagem e armazenamento de água, a plasticidade e a retenção de nutrientes (LEPSCH, 2011; BRADY e WEIL, 2014; RUCKS *et al.*, 2004).

De outra forma, de acordo com Adams (1995, p. 13), “a química do solo trata principalmente do estudo das fases sólida e líquida e de suas interações”. Em vista disso, pode-se referir que dentro das propriedades químicas do solo destacam-se aspectos como a capacidade de troca de cátions (CTC), o pH, o potencial redox, o teor de

nutrientes e a condutividade elétrica (CE), que de conformidade com Carvajal (1997), são elementos importantes no solo pois têm influência em fatores essenciais, como a biodisponibilidade dos nutrientes e a fertilidade.

Por outro lado, refere-se que, as propriedades biológicas estão associadas à presença de matéria orgânica e aos organismos presentes no solo como elemento fundamental para os ciclos de nutrientes. Dado isso, como resultado, pode-se dizer que a biologia do solo é o estudo dos organismos que alteram a composição, a estrutura e o funcionamento dos solos (CARVAJAL, 1997).

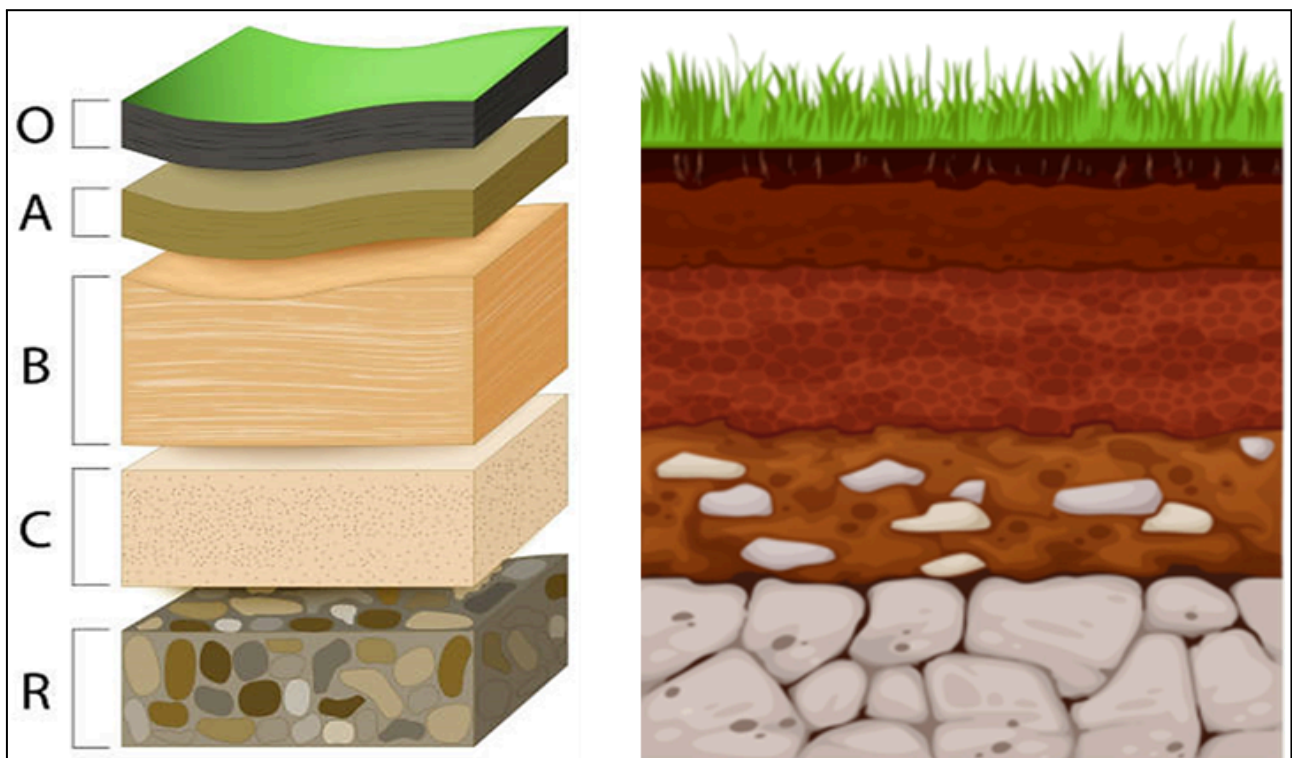
Nesse contexto, é válido argumentar que as propriedades biológicas do solo são de grande importância, pois abrangem a presença de organismos, como fungos, bactérias, nematóides, insetos e oligoquetas, que melhoram as condições do solo acelerando a decomposição e mineralização da matéria orgânica, além de produzirem processos de antagonismo ou sinergia que contribuem para o balanço entre populações daninhas e benéficas, que, por sua vez, também podem diminuir os organismos indesejados (CARVAJAL, 1997; DELGADO, PARRA e ESCOBAR, 2019; SILVA *et al.*, 2021).

Assim, ao considerar as propriedades do solo, também é essencial mencionar o processo de formação do solo e sua estrutura, comumente denominada como horizontes. Segundo Hodgson (1987), os horizontes são níveis internos do solo, paralelos à superfície, que se distinguem por diferenças na granulometria das partículas, cor, conteúdo de matéria orgânica, entre outras propriedades. Em outras palavras, são as camadas ou estratos distintos que constituem e/ou compõem o solo, onde cada camada é paralela à superfície e possui propriedades especiais, estabelecidas durante o processo de formação do solo, que diferenciam cada camada adjacente (ECHAVE, 1934; USDA, 2017).

Considerando isso, de forma geral, relata-se que existem cinco horizontes nos solos, observáveis em uma seção vertical e designados por letras, conforme ilustrado na Figura 1. Assim sendo, o horizonte O é uma camada composta principalmente por matéria orgânica, com baixa fração mineral, que se destaca por ser uma camada de cor escura, indicativa de um alto teor de matéria orgânica. O horizonte A, por sua vez, é uma camada superficial que combina matéria orgânica humificada com fração mineral, sendo considerado o horizonte mineral mais próximo da superfície. O horizonte B, é aquele que

se situa abaixo do horizonte A e é definido como um horizonte mineral subsuperficial, caracterizado pela acumulação de materiais eluviados das camadas superiores. Já o Horizonte C, é uma camada mineral menos desenvolvida, que atua como uma zona de transição entre a rocha-mãe e os horizontes superiores, sendo considerada como a camada que dá origem aos horizontes que se encontram acima dele. Enquanto, o horizonte D ou R, constitui-se como a rocha-mãe a partir da qual o solo é desenvolvido (SCHAETZL e THOMPSON, 2005; SiBCS, 2018; LAMB, 2018; HARTEMINK *et al.*, 2019).

**Figura 1** - Horizontes do solo



Fonte: Adaptado de ISTOCKPHOTO (2024) e PNGTREE (2024).

Contudo, também é fundamental referir que, na natureza existem, inúmeros tipos de perfis do solo, os quais podem apresentar um ou mais horizontes, dependendo do seu grau de desenvolvimento (COSTA LIMA, LIMA e MELO, 2007). Especificamente no Brasil, de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (2018), os solos são classificados em 13 perfis ou classes principais denominadas: argissolos, cambissolos, chernossolos, espodossolos, gleissolos, latossolos, luvissolos, neossolos, nitossolos, organossolos, planossolos, plintossolos e vertissolos, que são distribuídos em diferentes regiões ao longo do país (Figura 2); onde cada um desses perfis têm características e/ou propriedades morfológicas, físicas, químicas e mineralógicas específicas que os representam.

Os perfis de solos que predominam no Brasil são os Latossolos, Argissolos e Neossolos, que no conjunto se distribuem em aproximadamente 70% do território nacional. As classes Latossolos e Argissolos ocupam aproximadamente 58% da área e são solos profundos, altamente intemperizados, ácidos, de baixa fertilidade natural e, em certos casos, com alta saturação por alumínio. Também ocorrem solos de média a alta fertilidade, em geral pouco profundos em decorrência de seu baixo grau de intemperismo. Estes se enquadram principalmente nas classes dos Neossolos, Luvisolos, Planossolos, Nitossolos, Chernossolos e Cambissolos (EMBRAPA, [s.d.]).

**Figura 2** - Mapa dos perfis de solos do Brasil



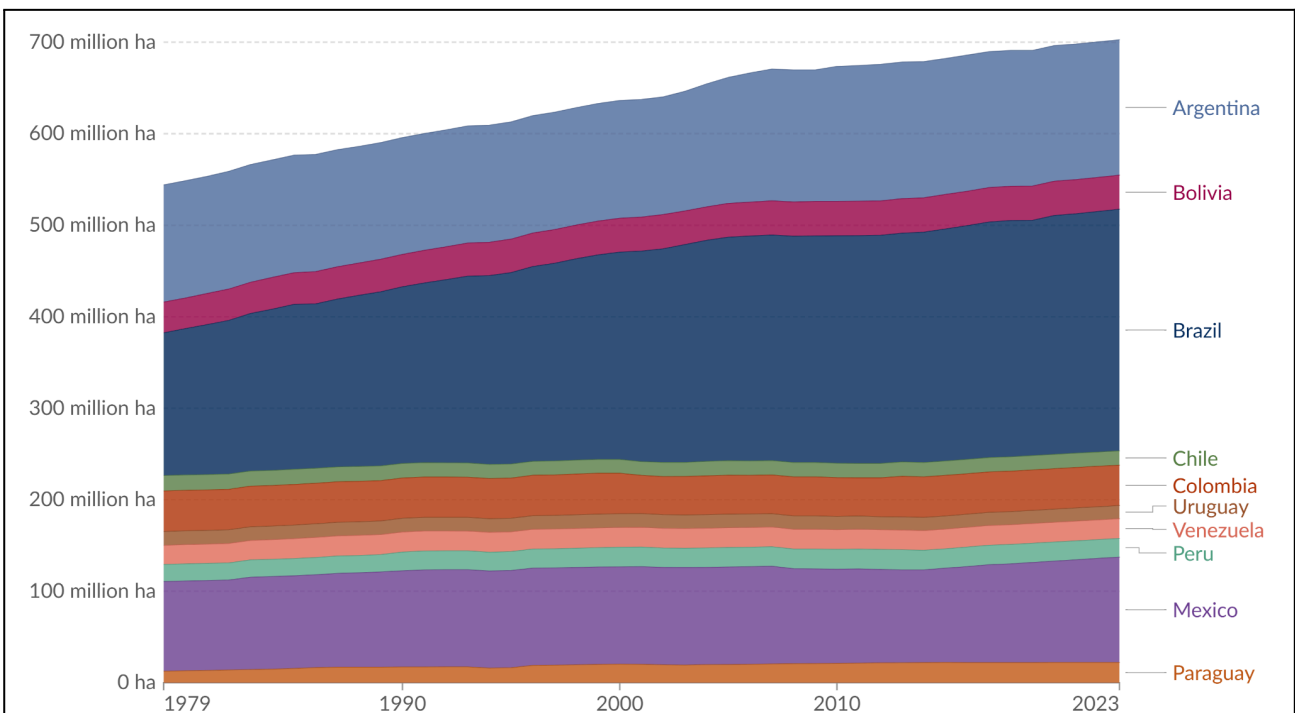
Fonte: Adaptado de EMBRAPA (2022).

## 2.1.2 Produção Agrícola e o Potencial de Degradação do Solo

Os solos são considerados um dos habitats biologicamente mais diversos da terra, e conforme destacado por Tordin (2022), “apenas um grama de solo pode conter entre 100 milhões a 10 bilhões de células microbianas ativas”, que são cruciais para o desenvolvimento vegetal. Aponta-se que aproximadamente a metade dos solos habitáveis no mundo são destinados à agricultura (RITCHIE e ROSER, 2019), sublinhando sua importância como recurso primordial.

Para obter produção adequada das culturas agrícolas, o solo desempenha um papel fundamental fornecendo nutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas, que, por sua vez, garantem alimentos vitais para a humanidade e os animais. Especificamente, na América Latina, este recurso é amplamente utilizado na agricultura (Gráfico 1), desempenhando um papel crucial nos setores econômico, social, cultural e ambiental da região.

**Gráfico 1** - Uso aproximado do solo para agricultura em hectares (ha), combinando terras de cultivo e pastagens, de 1979 a 2023 em alguns países da América Latina



Fonte: Adaptado de OUR WORLD IN DATA (2023).

Na produção agrícola, é essencial considerar os diferentes tipos de solo; conhecer quais classes de solos ocorrem nos locais ou potenciais locais de um cultivo, conhecer seus atributos e como se distribuem na paisagem, favorecendo tanto o uso e manejo racional e eficiente do solo, da água, de corretivos e fertilizantes, como a preservação dos recursos naturais (COELHO, BACA e FIDALGO, 2023).

Por sua vez, de acordo com Scolari (2006), o Brasil se destaca como um dos principais produtores mundiais de alimentos e fibras, contribuindo com mais de 4 % do total das exportações do agronegócio. Entre os principais produtos agrícolas do país estão o café, a cana-de-açúcar, o milho e a soja, todos eles dependentes diretamente do solo como recurso. Assim, cita-se que, no Brasil, a área cultivada alcança aproximadamente 64 milhões de hectares, posicionando o país como um dos líderes na produção agrícola. Em 2021, a produção agrícola brasileira atingiu 269,3 milhões de toneladas, registrando um aumento de 30 milhões de toneladas em relação a 2017 (PARDINA e GASCÓN, [s.d.]), atribuindo tal crescimento em parte à crescente tecnificação do setor, impulsionada pela adoção de tecnologias avançadas e por técnicas aprimoradas de manejo do solo, ressaltando conseqüentemente a importância de manter a qualidade do solo para atender às demandas crescentes e garantir o sucesso contínuo da agricultura nacional.

Por conseguinte, o solo, por ser um recurso natural, está severamente comprometido por processos que podem ser induzidos ou catalizados pelo homem, tais como o uso indiscriminado de fertilizantes e inseticidas químicos, além da utilização de maquinaria que degrada continuamente esse patrimônio (ACCIOLY, 2011; CASTILLO, 2009). Nesse contexto, é fundamental compreender que a degradação dos solos agrícolas consiste na perda mensurável ou na redução da capacidade atual e potencial dos solos de produzir materiais vegetais na quantidade e qualidade desejadas. Processo que resulta de fatores como o uso excessivo da terra, o manejo inadequado, o desmatamento, as alterações dos habitats naturais, além dos riscos naturais decorrentes de eventos como inundações, tempestades, terremotos e incêndios. Fatores que de forma isolada ou em conjunto, tornam os solos susceptíveis a diversos tipos de degradação, incluindo a erosão, a compactação, o endurecimento, a acidificação, o declínio da matéria orgânica, o esgotamento da fertilidade, a degradação biológica, a poluição e a deficiência de nutrientes; ocasionando conseqüentemente a perda do estoque genético e da biodiversidade do solo que impacta significativamente em sua qualidade (CHEN *et al.*, 2002; AFROZ, 2014; TSYGANKO *et al.*, 2024).

Dessa forma, pode-se perceber que a produção agrícola intensiva pode acelerar o processo de degradação do solo devido ao uso excessivo de agrotóxicos, manejo inadequado, monoculturas e práticas de irrigação insustentáveis, resultando na perda da capacidade produtiva do solo, na perda de nutrientes, na compactação do solo e

na erosão, sendo esta última a maior ameaça, com estimativas de que, até 2050, esse fator pode causar uma perda de 10 % na produção agrícola e remover 75 bilhões de toneladas de solo no mundo, demonstrando que as atividades humanas irão pressionar esse recurso a níveis críticos (FAO, 2022).

Em virtude disso, deve-se considerar que cerca de 33 % dos solos encontram-se degradados em níveis moderados a altos (Figura 3). Degradação que exige desafios importantes para a produção agrícola, como a redução da produtividade das culturas, a menor capacidade de retenção de água e o aumento da vulnerabilidade a pragas e doenças (FAO, 2017). Dados que estão em concordância com Ortiz (2012), que afirma que o crescimento das raízes e a decomposição da matéria orgânica diminuem consideravelmente em solos secos, reduzindo a cobertura do solo, e, conseqüentemente, aumentando sua vulnerabilidade à erosão.

**Figura 3** - Comparação entre um solo saudável (A) e um solo degradado (B)



Fonte: Adaptado de EOS DATA ANALYTICS (2021).

## 2.2 QUALIDADE DO SOLO

O conceito de Qualidade do solo (QS) surgiu como resposta aos significativos processos de degradação aos quais o solo está sujeito por ação antropogênica. Especificamente, como descrito por Vezzani e Mielniczuk (2009), a discussão sobre QS deu início como ponto crucial no cenário científico desde o início dos anos 1990, quando a comunidade acadêmica começou a reconhecer a importância fundamental do solo para a qualidade ambiental.

Dessa forma, de acordo com Doran e Parkin (1994), a QS é entendida como a capacidade do solo em funcionar dentro de um ecossistema, mantendo a produtividade biológica, preservando a qualidade ambiental e promovendo a saúde das plantas e dos animais. Similarmente, para a Soil Science Society of America (1997), a qualidade do solo é a capacidade do solo em funcionar dentro dos limites do ecossistema para sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade do meio ambiente e promover a saúde das plantas e animais.

Considerando o anterior, é aceitável dizer que, de conformidade com Sojka e Upchurch (1999), a QS não pode ser mensurada diretamente, dado que as composições física, química e biológica do solo variam enormemente, gerando sistemas diversos e dinâmicos; em função disso, a qualidade do solo somente pode ser mensurada através do uso de indicadores, que são atributos que medem ou refletem o *status* ambiental ou a condição de sustentabilidade do ecossistema (ARAÚJO e MONTEIRO, 2007; ARAÚJO *et al.*, 2012).

Nesse contexto, pode-se sustentar que a qualidade do solo é a integração das propriedades biológicas, físicas e químicas do solo, o que habilita o solo a exercer suas funções na plenitude. Entretanto, é importante mencionar que, na atualidade um dos maiores desafios na avaliação da qualidade de um solo é estabelecer um índice geral que abrange esses atributos simultaneamente (MUÑOZ-ROJAS, 2018).

## 2.3 INDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO

Como mencionado anteriormente, para que o conceito de QS seja funcional, é necessário dispor de variáveis que possam ser utilizadas para avaliar suas condições; nesse contexto, surgiram os indicadores de qualidade do solo (ARAÚJO *et al.*, 2012). Conceitualmente, os indicadores de qualidade do solo são propriedades mensuráveis, tanto quantitativas quanto qualitativas, que servem para caracterizar, avaliar e monitorar as mudanças que ocorrem em um ecossistema (KARLEN *et al.*, 1997). Dessa forma, pode ser dito que são atributos edáficos sensíveis ao manejo e às condições edafoclimáticas, que permitem determinar seu estado. Sendo os fatores edáficos as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, e as condições edafoclimáticas a interação e influência entre o solo e o clima.

Tal como sugerido por García, Ramírez e Sánchez (2012) *apud* Calderón,

Moreno e Barra (2002), os indicadores de qualidade do solo são definidos como instrumentos de avaliação que têm como objetivo oferecer dados sobre as propriedades, processos e características do solo, que são utilizados para monitorar os impactos das práticas de manejo no funcionamento do solo ao longo de um período específico. Em virtude disso, faz-se menção de que os indicadores podem ser as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, bem como os processos que ocorrem nele (USDA, 2015; ARAÚJO e MONTEIRO, 2007).

Não obstante, para que essas propriedades sejam consideradas indicadores, segundo Maser, Astier e Ridaura (1999) e García, Ramírez e Sánchez (2012), é necessário que todo indicador cumpra certas condições, tais como ser integrador, ser fácil de medir, ser adequado ao nível de análise, ser compreensível, ser sensível às mudanças que ocorrem no solo e ser correlacionado com os processos do ecossistema.

### 2.3.1 Indicadores Físicos

O estudo das propriedades físicas do solo como indicadores da qualidade do solo baseia-se principalmente na análise de algumas características, incluindo estrutura, densidade, permeabilidade, coloração, textura, temperatura, consistência e porosidade, a fim de delinear previsões sobre o comportamento do solo, tanto em ecossistemas naturais quanto nos alterados pelo homem (LEPSCH, 2011).

Portanto, este tipo de indicador pode ser usado, por exemplo, para avaliar a capacidade de um solo específico em aceitar, reter e transmitir água para as plantações, que, por sua vez, pode incluir testes de medição da estrutura do solo, do tamanho e da distribuição do espaço poroso, estabilidade de agregados, condutividade hidráulica saturada, ligação de partículas ou mecanismos de retenção (CRUZ *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2020).

Assim, de acordo com as informações de García, Ramírez e Sánchez (2012), pode-se afirmar que a estrutura, a densidade aparente, a estabilidade dos agregados, a infiltração, a profundidade do solo superficial, a capacidade de armazenamento de água e a condutividade hidráulica saturada são características físicas do solo que têm sido propostas como indicadores de sua qualidade.

### 2.3.2 Indicadores Químicos

Em vista da importância das propriedades químicas do solo, torna-se fundamental a realização de análises químicas quantitativas que podem servir como indicadores de sua qualidade, pois elas constituem uma ferramenta ideal para avaliar a fertilidade de um solo. Através de análises químicas, é possível determinar informações referentes à acidez e salinidade do solo, ao teor de matéria orgânica, à determinação do complexo sortivo, à determinação de macronutrientes como magnésio (Mg), nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), enxofre (S) e cálcio (C), entre outros, que são importantes para conhecer o potencial produtivo do solo e assim embasar estratégias de manejo (SILVA *et al.*, 2020; MAURYA *et al.*, 2020).

Dado isso, os indicadores químicos referem-se às condições desse tipo que influenciam as relações solo-planta, a qualidade da água, a capacidade de amortecimento do solo e a disponibilidade de água e nutrientes para as plantas e os microrganismos (GARCÍA, RAMÍREZ e SÁNCHEZ, 2012).

Especificamente, alguns dos principais indicadores químicos incluem a determinação da biodisponibilidade de nutrientes, a quantificação de carbono orgânico total, a medição de pH, a determinação de condutividade elétrica, a análise de mudanças em matéria orgânica, entre outros (FERRERAS *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2020).

### 2.3.3 Indicadores Biológicos

Nas últimas duas décadas, tem havido um interesse crescente pelo funcionamento biológico do solo, destacando a importância dos organismos como bons indicadores para o monitoramento e manutenção da saúde do solo. Em consequência, é possível afirmar conforme mencionado por Araújo e Monteiro (2007), que os microrganismos do solo, devido à sua abundância, atividade bioquímica e metabólica, além de sua capacidade de responder rapidamente às mudanças ambientais, possuem grande potencial para avaliar a qualidade do solo.

Desse modo, menciona-se que a presença de uma variedade de organismos no solo é fundamental para permitir um aumento na qualidade física e química, impactando, assim, o desempenho dos diferentes usos e manejos do solo (PINHEIRO *et al.*, 2016). Dessa forma, é notável a importância da biologia do solo, pois ela é crucial para a decomposição da matéria orgânica, a ciclagem de nutrientes, a

fixação de nitrogênio, entre outras funções relevantes, que fazem com que uma atividade biológica saudável seja um indicativo de um solo equilibrado.

Considerando isso, alguns dos indicadores biológicos da qualidade do solo podem incluir parâmetros como biomassa e/ou respiração microbiana, associações micorrízicas, comunidades de nematoides, atividade enzimática ou perfis de ácidos graxos, considerados bioindicadores de qualidade do solo (SILVA *et al.*, 2021; MAURYA *et al.*, 2020).

Pontualmente, para exemplificar o uso de indicadores na qualidade do solo, pode-se mencionar o estudo de Lima *et al.*, (2007), que comparou as propriedades físicas, químicas e biológicas de solos cultivados com algodão em bases orgânicas e no sistema convencional no município de Tauá, Ceará, visando identificar se essas propriedades poderiam ser utilizadas como indicadores de qualidade do solo. Através desse trabalho, eles mostraram que os indicadores físicos e químicos testados individualmente não eram sensíveis para diferenciar as áreas sob sistema de cultivo orgânico daquelas sob cultivo convencional. No entanto, através da aplicação de técnicas de análise multivariada permitiu-se a distinção entre algumas áreas cultivadas sob cultivo orgânico comparativamente às convencionais. Além disso, identificou-se que, entre os indicadores biológicos, a fauna edáfica mostrou maior precisão na avaliação da qualidade do solo, distinguindo de forma satisfatória as áreas sob sistema de cultivo orgânico daquelas sob o sistema convencional.

Desde outra perspectiva, Melloni *et al.*, (2008), empregaram em suas análises o uso de indicadores químicos, físicos e biológicos para determinar a qualidade do solo em processos onde florestas de araucária foram substituídas por pastagens ou extensos plantios de eucalipto. Como resultado, eles mostraram que a grande maioria dos indicadores físicos e biológicos eram eficientes na discriminação dos diferentes ecossistemas, sendo, portanto, recomendados em estudos sobre qualidade ambiental.

Da mesma forma, de acordo com o trabalho realizado por Faria, Melloni e Pereira-Melloni (2021), logrou-se identificar que a utilização de indicadores físicos, químicos e biológicos é essencial para a avaliação da qualidade do solo. Especificamente, os autores analisaram a qualidade do solo em função de duas formas de produção de banana, orgânica e convencional, no município de Gonçalves, em Minas Gerais. Através das análises realizadas em cinco áreas produtivas: duas com sistema de produção

orgânica, duas com produção convencional e uma área de mata nativa que serviu como controle, os pesquisadores conseguiram revelar que ambos os sistemas de produção contribuíram para o aumento da matéria orgânica e a melhoria da qualidade do solo, impactando em diferentes atributos físicos, químicos e biológicos; onde tal similaridade nas qualidades do solo sugeriu, a sua vez que, diferentes manejos poderiam ter efeitos benéficos, independentemente do sistema de produção.

Por outro lado, Rocha *et al.*, (2022), conduziu um estudo que utilizou uma metodologia baseada na determinação de indicadores de qualidade do solo, visando a aplicação desses indicadores em análises do solo no bioma Cerrado em Minas Gerais. Pontualmente, através desse trabalho os autores selecionaram indicadores de qualidade de solo sensíveis às diferentes práticas agrícolas adotadas em áreas de sistemas agroecológicos na região do Cerrado Mineiro. Para isso, eles avaliaram uma variedade de atributos, incluindo pH, matéria orgânica, teores de fósforo, potássio, cálcio e magnésio, além de bioindicadores, como população da microbiota, carbono da biomassa microbiana, respiração basal e atividade das enzimas betaglicosidase, fosfatase e arilsulfatase. Sendo esses indicadores avaliados em áreas de cultivo agroecológico e em áreas de pastagem que serviram como controles referenciais. Como resultado, os pesquisadores determinaram que as variáveis: respiração basal, betaglicosidase, pH, colônias de bactérias e de actinobactérias eram sensíveis aos diferentes manejos de cultivo e que com base nisso, que tais atributos poderiam ser utilizados como indicadores de qualidade do solo na região, dado que foram capazes de evidenciar diferentes alterações no funcionamento do solo.

## 2.4 BIOANÁLISE DO SOLO

Para avaliar a qualidade do solo, é essencial compreender seu estado. Para isso, é necessário estudar certas características e atributos mensuráveis do solo, que podem ser impactados por processos que afetam sua funcionalidade. Assim, a medição e a análise dessas variações refletem ou indicam essas alterações (ACTON e PADBURY, 1994).

Levando isso em conta, em concordância com a Société Générale de Surveillance (SGS) (2021), a bioanálise do solo é descrita como uma avaliação qualitativa e quantitativa que fornece informações sobre os principais grupos de organismos biológicos presentes no solo, os quais atuam como bioindicadores da saúde e estão

relacionados ao potencial produtivo do ambiente.

Dessa forma, uma bioanálise pode ser aplicada para entender o estado do solo, pois avalia a atividade biológica e a diversidade dos microrganismos presentes, onde tal ferramenta é empregada através de estudos de laboratório que também são utilizados em pesquisa e diagnóstico, medindo a atividade e/ou grupos de organismos biológicos benéficos que não são detectados através de análises simples de solo.

Nesse contexto, pode-se dizer que a palavra “bio” significa vida e a palavra “análise” refere-se à separação das partes de um todo para descobrir suas propriedades e elementos (PORTO e MERINO, 2023). Considerando isso, infere-se que o propósito de uma bioanálise é entender a interação dos organismos com outros elementos do solo, já que juntos influenciam significativamente o potencial produtivo e a sustentabilidade do solo (MACHADO, 2024).

Nesse sentido, um exemplo notável de aplicação de bioanálises no solo é a tecnologia BioAs recentemente desenvolvida pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Essa tecnologia, lançada em julho de 2020, teve como objetivo principal integrar o componente biológico nas análises de rotina do solo, avaliando assim a saúde e a qualidade do solo através de parâmetros biológicos do solo junto com as análises químicas e físicas convencionais (pH, H + Al, P, Ca, K, Mg, textura, etc.) (MENDES *et al.*, 2020).

Dentro dos parâmetros biológicos avaliados, a EMBRAPA analisa o funcionamento da maquinaria biológica do solo baseado fundamentalmente na atividade enzimática das enzimas arilsulfatase e betaglicosidase, dado que essas duas enzimas estão correlacionadas com a matéria orgânica do solo, o rendimento de grãos (especialmente da soja) e outros atributos biológicos (biomassa microbiana, respiração basal, etc.), além de não serem influenciadas pela aplicação de adubos e calcário (MACHADO, 2024; MENDES *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2013).

Dessa forma, infere-se que essa metodologia é utilizada, visto que, as enzimas são mais sensíveis que a matéria orgânica do solo e portanto podem detectar com antecedência as alterações que podem beneficiar ou prejudicar a saúde do solo em função do manejo.

### 2.4.1 Índices de Qualidade do Solo

Como mencionado anteriormente, de forma geral uma bioanálise do solo consiste principalmente na determinação de alguns indicadores ligados ao seu funcionamento biológico. Desse modo, pode ser utilizada também na construção de um índice de qualidade do solo (IQS), que é composto de diversas medidas do solo (MELLONI, 2007; TÓTOLA e CHAER, 2002), que facilitam e ampliam a avaliação da QS, oferecendo um diagnóstico detalhado das suas limitações e potencialidades em diferentes níveis.

Particularmente, os índices de qualidade do solo podem ser obtidos através de uma expressão ou modelo matemático que inclua os atributos do solo considerados. Nesse sentido, é importante destacar que muitas tentativas têm sido feitas para compor um índice integrado de QS, visando determinar índices de produtividade. Como por exemplo, o trabalho da EMBRAPA, que através de sua metodologia em bioanálise do solo, conseguiu integrar um índice de qualidade de solo chamado índice Fertbio ( $IQS_{\text{FERTBIO}}$ ) que é composto pelas determinações dos indicadores químicos (pH, H + Al, Ca, K, P, Mg e MOS) e dos indicadores biológicos (teores das enzimas arilsulfatase e betaglicosidase), no qual é obtida uma nota de 0 a 1, sendo que valores mais próximos de 1 indicam melhor qualidade do solo (MENDES *et al.*, 2020).

No entanto, vale a pena destacar que também existem outros tipos de índices que têm sido desenvolvido no transcurso da história da agricultura, como o trabalho de Storie em 1978 (O'GEEN, 2008), que desenvolveu um sistema de pontuação do solo baseado em valores medidos das propriedades físicas e químicas, como o perfil do solo, textura, profundidade, porosidade, drenagem, alcalinidade, morfologia, entre outras características. Nesse índice de qualidade do solo, cada propriedade era classificada em quatro fatores principais e posteriormente avaliada em uma escala de 0 a 1. As pontuações dessas quatro propriedades eram então multiplicadas para gerar uma pontuação relativa, resultando no estabelecimento de seis principais classes relacionadas à capacidade produtiva do solo (1: excelente; 2: bom; 3: moderado; 4: ruim; 5: muito ruim; 6: não agrícola), que refletiam sua contribuição para a produtividade agrícola. Por exemplo, no trabalho realizado por El-Aziz (2018), foi utilizado o índice de Storie como referência para avaliar a capacidade e qualidade de diferentes solos, visando seu uso na agricultura, cujos resultados indicaram que a maioria dos solos analisados eram

classificados como bons ou moderadamente adequados, tornando-os promissores especialmente para o cultivo de culturas como melancia, alfafa, trigo, beterraba, batata, milho, azeitona e girassol.

Por outro lado, outros autores têm desenvolvido diferentes tipos de índices relevantes. Pierce *et al.*, (1983), criaram um índice de produtividade projetado para identificar solos mais suscetíveis à erosão, fundamentado em uma equação matemática. Ou, de outra forma, o sistema Riquier-Bramão, caracterizado por avaliar a produtividade potencial do solo através de um índice que refletia a produção de uma cultura como porcentagem do melhor rendimento obtido no mesmo solo, também calculado através de uma equação matemática (MASSOBRIO, IRIGOIN e CASSANI 2019). Conforme destacado por Gutiérrez *et al.*, (2018), que aplicou o sistema Riquier-Bramão para avaliar a qualidade do solo em quatro agroecossistemas distintos (pastagem, cereal, castanheiro e carvalho), cujo objetivo foi verificar a adequação dos solos para esses usos e propor possíveis melhorias. Os resultados mostraram que os solos eram adequados para os usos que estavam recebendo. Contudo, foi constatado que o índice de qualidade do solo para a cultura de cereais era inferior ao da pastagem, sugerindo a necessidade de reconsiderar o uso desses dois solos, possivelmente revertendo suas funções.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a aplicabilidade de bioindicadores na determinação da qualidade do solo, por meio de uma revisão da literatura, seleção de bioindicadores e uma avaliação *in vitro* em diferentes amostras de solo.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar a literatura científica e analisar os resultados obtidos sobre indicadores e bioindicadores, avaliando a aplicabilidade dos métodos utilizados para indicar a qualidade do solo.
- Selecionar bioindicadores com base nos resultados da revisão da literatura e avaliar, *in vitro*, sua eficácia em amostras de solo submetidas a diferentes tratamentos.
- Coletar amostras de solo com características distintas, resultantes da aplicação de diferentes tratamentos em parcelas experimentais de cultivo de soja.
- Avaliar a atividade das enzimas arilsulfatase e betaglicosidase.
- Avaliar a aplicabilidade dos bioindicadores enzimáticos.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

Para a realização do Trabalho de Conclusão de Curso, foi necessária a execução de uma série de experimentos laboratoriais, conforme descrito na metodologia. Portanto, foram empregados diversos materiais, equipamentos e reagentes, os quais estão listados no Quadro 1 a seguir.

**Quadro 1** - Materiais, equipamentos e reagentes que foram empregados nos procedimentos experimentais

Materiais e equipamentos	Reagentes
Tubos de ensaio	Tolueno
Tubos criogênicos	Tris-hidroximetil-aminometano (Tris)
Tubos Falcon	Ácido maleico
Papel filtro	Ácido bórico
Pipetas calibradas	Ácido cítrico
Ponteiras estéreis	Hidróxido de sódio
Pipetas de Pasteur	Ácido clorídrico
Béqueres	Cloreto de cálcio
Provetas	Acetato de sódio tri-hidratado
Garrafas Schott	Ácido acético glacial
Peneira	p-nitrofenol (PNF)
Rack Estante	p-nitrofenil-β-D-glicosídeo (PNG)
Funil de vidro	p-nitrofenil sulfato de potássio (PNS)
Vidros relógio	Álcool etílico 70%
Espátulas	Pisseta com água destilada
Cubetas de vidro	
Placas de Petri ou cacinhos de porcelana	
Almofariz e pistilo	
Sacos plásticos	
Termômetro	
Caneta	
Centrífuga	

Incubadora	
Balança analítica	
Autoclave	
Espectrofotômetro UV Visível	
Agitador tipo Vórtex	
Banho maria	
pHmetro	

Fonte: Própria autoria (2024).

## 4.2 METODOLOGIA

### 4.2.1 Levantamento Bibliográfico













Para a realização da revisão bibliográfica tipo narrativa, foram selecionados artigos publicados em português, espanhol e inglês, os quais estavam disponíveis em bases de dados e revistas científicas como Google Acadêmico, SciELO (Scientific Electronic Library Online), ScienceDirect, Bioscience Journal, Infoteca da EMBRAPA, Nature, entre outras. Assim, durante a pesquisa, utilizou-se as palavras-chaves como: "Solo"; "Qualidade do solo"; "Indicadores do solo"; "Indicadores Biológicos"; "Bioindicadores"; "Enzimas"; "Arilsulfatase"; "Betaglicosidase" e outros, bem com suas respectivas combinações nas línguas espanhola e inglesa. Adicionalmente, foram realizadas consultas a diferentes literaturas que abordavam os temas de interesse, com o objetivo de sintetizar a fundamentação teórica.

### 4.2.2 Coleta das Amostras de Solo

Para a coleta das amostras de solo com características distintas, foi utilizado um experimento em andamento, coordenado pela Professora Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos e seus colaboradores, que tinha como propósito avaliar o impacto de um bioinoculante fúngico composto por *Clonostachys rosea* (CCMIBA\_R018), *Purpureocillium lilacinum* (CCMIBA\_R014) e *Bjerkandera* sp. (CCMIBA\_R111) na produtividade agrícola da soja Pé-Vermelho. Assim, dentro do delineamento experimental do projeto "Desenvolvimento de Inoculante para Biorremediação de Solos Agrícolas Baseado na Associação de Fungos e Carvão Ativado", foram destinadas parcelas experimentais específicas para este Trabalho de Conclusão de Curso, que continham

diferentes combinações de tratamentos, incluindo: solo; solo com atrazina; solo com atrazina e bioinoculante fúngico; e solo com atrazina e biochar (carvão ativado), conforme descrito no mapa experimental (Figura 4).

**Figura 4** - Mapa experimental do croqui de campo utilizado para as coletas, incluindo as três réplicas (A,B e C) de cada tratamento

	1	2	3	4
A	<i>Tratamento</i>  Solo Atrazina Bioinoculo	<i>Tratamento</i>  Solo Atrazina Biochar	<i>Controle</i>  Solo	<i>Tratamento</i>  Solo Atrazina
B	<i>Tratamento</i>  Solo Atrazina	<i>Tratamento</i>  Solo Atrazina Bioinoculo	<i>Tratamento</i>  Solo Atrazina Biochar	<i>Controle</i>  Solo
C	<i>Tratamento</i>  Solo Atrazina	<i>Controle</i>  Solo	<i>Tratamento</i>  Solo Atrazina Biochar	<i>Tratamento</i>  Solo Atrazina Bioinoculo

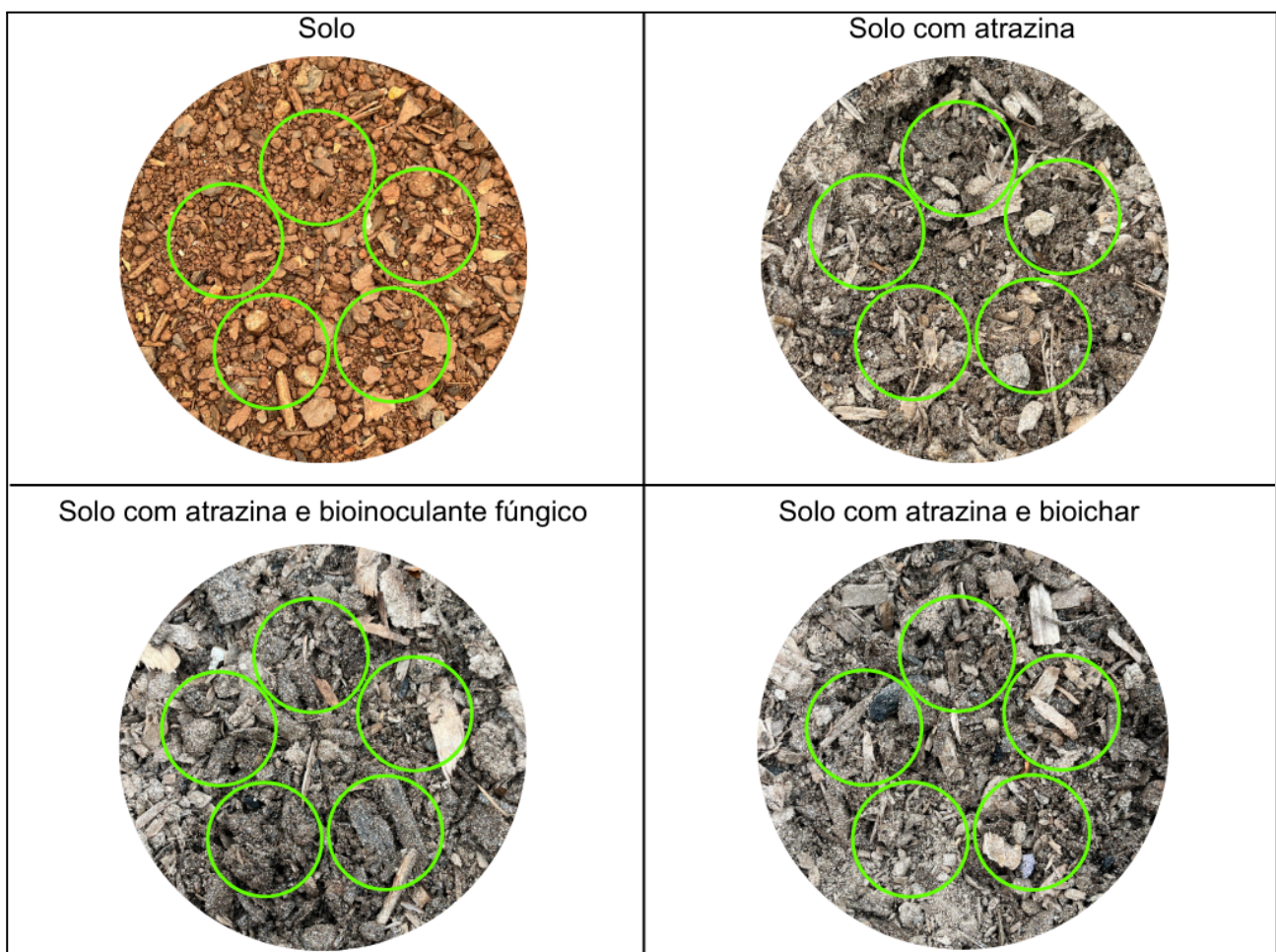
Fonte: Própria autoria (2025).

O solo utilizado foi um composto orgânico condicionador de solo da marca Biomix, produzido com materiais orgânicos humificados, que concentrava macro e micronutrientes essenciais para a vida vegetal, possuindo características físico-químicas que incluíam pH 7,2, CTC de 20 cmol/Ds<sup>3</sup>, umidade máxima de 55%, capacidade de retenção de água (CRA) de 80% e densidade na base seca de 530 kg/m<sup>3</sup>. Assim, em cada parcela experimental, foram adicionados 5.8 kg desse solo. Os tratamentos que continham atrazina foram previamente contaminados, antes da semeadura, com 10 mg/L da solução comercial do herbicida (Nortox). O bioinoculante utilizado nos tratamentos (solo com atrazina e bioinoculante fúngico) foi preparado a partir da mistura dos micélios dos fungos mencionados, imobilizados em carvão ativado (marca: Biochar Brasil), e cada unidade experimental foi inoculada com 25 g dessa formulação. Nos tratamentos

denominados "solo com atrazina e biochar", foi adicionada a mesma quantidade (25 g) de carvão ativado, porém sem a presença de micélio. Dessa forma, no total, para a análise de qualidade do solo, foram utilizados três tratamentos (solo com atrazina; solo com atrazina e bioinoculante fúngico; e solo com atrazina e biochar) e um controle (solo).

Considerando isso, o processo de coleta das amostras de solo foi conduzido de acordo com a metodologia descrita por Brasil, Cravo e Veloso (2020) e Borges e Accioly (2020), com algumas modificações. De maneira geral, para garantir a representatividade e homogeneidade do solo em cada parcela experimental, foram realizadas coletas simples para cada amostra e suas respectivas réplicas, utilizando uma espátula e uma colher de amostragem. Pontualmente, para a coleta de cada amostra simples, coletou-se solo de cinco pontos diferentes da unidade experimental (Figura 5), a uma profundidade de 20 cm, sendo armazenado em tubo Falcon, devidamente identificado. Seguidamente, para a realização das amostras compostas, as amostras simples de cada tipo de amostra foram misturadas de forma homogênea em saco plástico limpo, formando uma única amostra representativa para cada tipo.

**Figura 5** - Esquema dos cinco pontos de coleta realizados nas unidades experimentais pertencentes à réplica A no tempo zero (T0)



Fonte: Própria autoria (2025).

Vale destacar que as amostras foram coletadas em dois momentos distintos, correspondentes a diferentes fases de tempo e desenvolvimento, conforme descrito no Quadro 2. Dessa forma, em cada fase, foram obtidas quatro amostras de solo distintas, totalizando oito amostras ao final do processo. Assim, considerando as réplicas amostradas, o número total de coletas foi de 24 unidades experimentais. Por fim, a quantidade de solo obtida foi suficiente para garantir a representatividade de cada amostra, assegurando que as análises subsequentes fossem realizadas com precisão e confiabilidade.

**Quadro 2** - Informações das coletas realizadas e condições observadas

Amostragem	Identificação da amostra	Data de coleta	Parcelas experimentais amostradas	Descrição da coleta	Observações adicionais
1	T0	Dezembro de 2024	12	Coleta realizada após plantio da semente de soja e adição de inoculante	Sem evidência de crescimento das plantas
2	T1	Janeiro de 2025	12	Coleta realizada após a germinação das sementes de soja	Estádio V1

T0: Tempo zero, que consiste no momento da semeadura; T1: Tempo um, que consiste no momento em que a primeira folha trifoliada estava completamente desenvolvida. Fonte: Própria autoria (2025).

#### 4.2.3 Processamento das Amostras de Solo

No laboratório, as amostras foram maceradas com auxílio de almofariz e pistilo e, em seguida, peneiradas utilizando uma malha de 2 mm. Posteriormente, foram submetidas à secagem em estufa a 42 °C por cerca de 48 horas, até atingirem peso constante. Tais procedimentos foram realizados a fim de padronizar e homogeneizar as condições para análises das amostras.

#### 4.2.4 Determinação da Atividade Enzimática de Arilsulfatase e de Betaglicosidase

Para a determinação da atividade enzimática da arilsulfatase e betaglicosidase, foram utilizadas diferentes soluções e reagentes, seguindo o protocolo

estabelecido por Tabatabai (1994), com algumas modificações (Apêndices A e B). Assim, inicialmente, 1,0 g de solo seco foi pesado e submetido a uma série de procedimentos, que incluíram a adição de reagentes e soluções específicas para cada enzima (Quadro 3), incubação em banho-maria, centrifugação, filtração e leitura colorimétrica a 410 nm em espectrofotômetro UV-VIS (modelo WUV-M51, WEBLABORSP).

**Quadro 3** - Quantidades de reagentes e soluções para a determinação da atividade enzimática de arilsulfatase e betaglicosidase

Análise biológica	Peso da amostra utilizado	Reagentes empregados na detecção enzimática
Atividade enzimática Arilsulfatase	1 g de solo	0,25 mL de tolueno; 4 mL de tampão de acetato 0,5 mol/L; 1 mL de substrato PNS 0,05 mol/L; 1 mL de CaCl <sub>2</sub> 0,5 mol/L e 4 mL de NaOH 0,5 mol/L.
Atividade enzimática Betaglicosidase	1 g de solo	0,25 mL de tolueno; 4 mL de MUB (pH 6); 1 mL de substrato PNG; 1 mL de CaCl <sub>2</sub> 0,5 mol/L; 4 mL de Tris (pH 12) 0,1 mol/L e Tris (pH 10).

Fonte: Adaptado de TABATABAI (1994).

Posteriormente, para quantificar as atividades enzimáticas pelo método colorimétrico, foi realizada uma curva de calibração para cada batelada de amostras (Apêndices C, D, E e F), cujo preparo seguiu os volumes descritos na Tabela 1. Cada curva foi lida a 410 nm no espectrofotômetro e teve como objetivo estabelecer a relação entre a absorbância e a concentração de p-nitrofenol (PNF). Uma vez que a enzima arilsulfatase catalisa a hidrólise do sulfato no PNS, liberando sulfato e PNF no solo, sendo que a quantidade de sulfato é proporcional a de PNF. Enquanto a betaglicosidase catalisa a hidrólise dos glucosídeos no PNG, liberando açúcares de PNF no solo, cuja concentração também é proporcional à de p-nitrofenol (TABATABAI, 1994).

**Tabela 1** - Volumes de reagentes e soluções utilizadas para obtenção da curva de calibração de arilsulfatase e betaglicosidase.

Tubos de ensaio	Solução padrão diluída de PNF (mL)	Água destilada autoclavada (mL)	CaCl <sub>2</sub> (mL)	NaOH Arilsulfatase (mL)	Tris pH 12 Betaglicosidase (mL)	Concentração final de p-nitrofenol (PNF)
1	0	5	1	4	4	0
2	1	4	1	4	4	1
3	2	3	1	4	4	2
4	3	2	1	4	4	3
5	4	1	1	4	4	4
6	5	0	1	4	4	5

Fonte: Adaptado de TABATABAI (1994).

Dessa forma, para calcular numericamente os valores das atividades enzimáticas, primeiramente plotou-se a curva de calibração utilizando a ferramenta de Microsoft Excel (2025), determinando-se, em seguida, a equação da reta e o valor de R<sup>2</sup>. Assim, a partir da equação da reta (Equação 1), para cada amostra, foi resolvida a equação para X, a fim de determinar a concentração de p-nitrofenol conforme Equação 2.

$$y = ax + b \quad (\text{Equação 1})$$

$$X = \frac{Y-b}{a} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

y = média das absorbâncias de cada amostra.

x = concentração de p-nitrofenol a ser determinada.

a = parâmetro de ajuste do modelo.

b = parâmetro de ajuste do modelo.

Por fim, para expressar a atividade da enzima em relação à massa de solo, resolveu-se a Equação 3, que gerou o valor final da atividade enzimática.

$$p - \text{nitrofenol} (\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}) = \frac{C x V}{g x t} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

C = concentração de p-nitrofenol na suspensão de solo, em µg/mL (Equação 2).

V = volume da suspensão do solo equivalente a 10,25 mL.

g = peso do solo seco equivalente a 1 g.

t = tempo de incubação equivalente a 1 h.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO: BIOINDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO

Ao longo do tempo, os estudos na qualidade do solo concentravam-se principalmente na análise de indicadores químicos ou físicos, subestimando o papel da biota no funcionamento do solo. No entanto, segundo Doran e Zeiss (2000), as propriedades biológicas do solo atendem a maioria dos requisitos necessários para serem consideradas indicadores de qualidade, o que impulsionou o avanço das pesquisas sobre bioindicadores, os quais ganharam destaque por seu papel fundamental na avaliação integral do solo.

Dessa forma, ideologicamente, os bioindicadores são delineados como indicadores biológicos da qualidade de um ambiente e das mudanças que ele sofre ao longo do tempo, sejam de origem antropogênica ou natural (MONTESANTI, [s.d.]). Desse modo, os bioindicadores constituem um subconjunto dos indicadores biológicos, podendo ser organismos individuais ou comunidades inteiras utilizadas para avaliar a qualidade ambiental, como, por exemplo, a do solo. Sendo assim, o termo bioindicador tem sido usado para identificar respostas biológicas que indicam a exposição, os efeitos de poluentes, entre outros aspectos, em organismos, populações, comunidades e ecossistemas (ANDRÉA, 2008).

Além disso, Mendes, Sousa e Reis Júnior (2015, p. 194), citam que “vários estudos mostram que os bioindicadores são mais sensíveis que indicadores químicos e físicos para detectar, com mais antecedência, alterações que ocorrem no solo em virtude do seu uso e manejo”. Considerando isso, pode-se dizer que, os bioindicadores mais adequados para uso na avaliação da QS são a biomassa microbiana, a respiração basal, o quociente microbiano, o quociente metabólico e a atividade enzimática do solo (GARBUSU *et al.*, 2007; ZATORRE, 2008). Uma vez que, para avaliar a qualidade do solo, é fundamental considerar a atividade dos microrganismos visto que são fundamentais, em processos como, na decomposição de resíduos orgânicos que influencia diretamente os ecossistemas e a fertilidade do solo, além de desempenhar um papel crucial no estabelecimento dos ciclos biogeoquímicos e na formação da estrutura do solo.

Nesse sentido, desde um ponto de vista diferente, é importante referir que, no Brasil a necessidade de inclusão de bioindicadores nas avaliações de rotina do

solo iniciou com adoção de sistemas conservacionistas de manejo, como o sistema de plantio direto (SPD), a integração lavoura-pecuária (ILP) e a integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF), já que nem sempre as alterações nas propriedades químicas e os teores de matéria orgânica do solo (MOS), eram suficientes para identificar as modificações resultantes da adoção desses manejos (MENDES *et al.*, 2018).

Com isso, pontualmente, a importância dos bioindicadores na qualidade do solo pode ser exemplificada pelo estudo de Aragão *et al.*, (2012). Nesse trabalho, realizado no Nordeste Paraense, foi avaliada a qualidade do solo sob diferentes alternativas de recuperação, em diversas épocas de amostragens; como resultado determinou-se que a fosfatase ácida, o nitrogênio da biomassa microbiana e o carbono da biomassa microbiana eram os bioindicadores mais eficazes para detectar os efeitos dos tratamentos de recuperação, mostrando-se mais sensíveis e capazes de fornecer informações valiosas sobre a fertilidade e a recuperação dos solos, ressaltando sua importância crucial na avaliação da saúde e funcionamento do solo.

#### 5.1.1 Biomassa Microbiana

A quantidade de microrganismos no solo, conhecida como biomassa microbiana do solo (BMS) ou carbono da biomassa microbiana (C-BMS), desempenha um papel crucial na regulação das atividades microbiológicas e no acúmulo de nutrientes na matéria orgânica do solo, conforme destacado por Rosa *et al.*, (2005). Dessa forma, a BMS representa a fração viva e mais ativa da matéria orgânica (MO), que é constituída por bactérias, fungos, antinobacterias, algas e microfauna, ou de outra forma, organismos que vivem no solo com dimensões inferiores a aproximadamente 10 µm. Esses organismos são importantes dado que atuam em processos que vão desde a formação do solo até a decomposição de resíduos orgânicos, além de outras funções (DIONÍSIO, PIMENTEL e SIGNOR, 2016.; REIS JÚNIOR e MENDES, 2007; SCHLOTTER, DILLY e MUNCH, 2003). Assim sendo, a biomassa microbiana é considerada o compartimento central do ciclo de carbono; e de acordo com Blagodatskaya e Kuzyakov (2008), o carbono presente neste indicador constitui uma reserva de energia para futuros processos microbianos.

Por sua parte, refere-se que, existem diversas metodologias que são utilizadas para estimar a biomassa microbiana, podendo ser avaliada por métodos diretos e indiretos. Entre as técnicas mais comumente aplicadas destacam-se a

fumigação-incubação, a fumigação-extração e a irradiação-extração, que em termos quantitativos elas são expressadas em  $\mu\text{g}$  de C  $\text{g}^{-1}$  ou  $\text{mg}$  de C  $\text{kg}^{-1}$  de solo seco. Simultaneamente, também refere-se que a BMS ao ser associada ao conteúdo de matéria orgânica, pode ser empregada como bioindicador potencial para avaliar a qualidade do solo, devido a sua alta sensibilidade às mudanças nas condições ambientais, sejam elas relacionadas à estrutura ou à composição química (REIS JÚNIOR e MENDES, 2007; PINTO *et al.*, 2019).

Dessa maneira, solos que mantêm um alto conteúdo de biomassa microbiana não apenas armazenam carbono, mas também facilitam uma maior ciclagem de nutrientes no sistema (GREGORICH *et al.*, 1994). De acordo com Pinto *et al.*, (2019) e Novak *et al.*, (2022), a biomassa microbiana é um atributo essencial que permite uma avaliação mais rápida e precoce da qualidade do solo, especialmente quando comparado a atributos químicos e físicos. Isso se deve ao fato de que a biomassa microbiana é um indicador que pode ser altamente sensível às variações das condições ambientais e de manejo do solo, sendo amplamente considerada como um índice de fertilidade do solo e produtividade dos ecossistemas (SINGH e GUPTA, 2018). Assim, é possível referir que, em geral, quanto maior a BMS, melhor a qualidade do solo. No entanto, é importante ressaltar que a análise isolada desse atributo não deve ser utilizada como parâmetro exclusivo no entendimento da dinâmica do solo.

### 5.1.2 Respiração Basal

Como descrito por Silva, Azevedo e De-Polli (2007), a respiração basal (RBS), é o somatório de todas as atividades metabólicas que resultam na produção de  $\text{CO}_2$  sendo que, principalmente bactérias e fungos desempenham um papel fundamental na maior liberação de  $\text{CO}_2$  através da decomposição de matéria orgânica.

Neste sentido, a respiração edáfica ou basal como bioindicador envolve a oxidação biológica da matéria orgânica em  $\text{CO}_2$  por microrganismos aeróbios como bactérias, fungos, algas e protozoários, que desempenham um papel central no ciclo do carbono nos ecossistemas terrestres (SILVA *et al.*, 2015; KONRAD e CASTILHOS, 2001).

Especificamente, a RBS pode ser mensurada através de testes laboratoriais simples e baratos, no entanto, este indicador se vê afetado por fatores inerentes ao solo como temperatura e umidade, além de que é altamente variável tanto

especialmente quanto sazonalmente. Ainda assim, este fator é caracterizado por ser eficaz na detecção rápida de mudanças físicas e químicas nas condições ambientais que possam influenciar a atividade microbiana.

### 5.1.3 Quociente Metabólico

O quociente metabólico ( $qCO_2$ ) é um índice que expressa a taxa de respiração por unidade de biomassa microbiana, dessa forma é a razão entre a RBS e a BMS por unidade de tempo. Especificamente, este índice é usado para estimar a eficiência do uso de substrato pelos microrganismos do solo fornecendo informações sobre a atividade microbiológica do solo e demonstrando a taxa de respiração microbiana (REIS JÚNIOR e MENDES, 2007; FEITOSA JÚNIOR *et al.*, 2019). De outra forma, segundo Saviozzi *et al.*, (2002), e Wardle e Ghani (1995), o  $qCO_2$  mostra a eficiência da biomassa microbiana na utilização do carbono disponível para biossíntese, sendo sensível indicador para estimar tanto a atividade biológica quanto a qualidade do substrato.

Alternativamente, em concordância com Ferreras *et al.*, (2009), e Masto *et al.*, (2006), o quociente metabólico é um indicador das mudanças que ocorrem no solo, dado que revela a energia requerida para a manutenção dos microrganismos. Medida que, pode ser fundamental para compreender as transformações químicas e biológicas que ocorrem em diferentes sistemas de manejo agrícolas, permitindo avaliar de forma específica a atividade metabólica, a qual pode variar de acordo com a composição e o estado fisiológico da comunidade microbiana, bem como com a biodisponibilidade de substratos, entre outros fatores influentes.

Por outro lado, vale a pena mencionar que, na opinião de Gómez (2018), o  $qCO_2$  talvez seja o índice mais utilizado para descrever a eficiência dos microrganismos no uso da energia, especialmente com o aumento da biodiversidade, e geralmente é aplicado para comparar o impacto que tem as mudanças estacionais, sistemas de manejo, adição de metais, agroquímicos e xenobióticos sobre os microrganismos do solo.

### 5.1.4 Quociente Microbiano

O quociente microbiano ( $qMIC$ ) é um índice utilizado para fornecer indicações sobre a qualidade de matéria orgânica. Especificamente, tal indicador representa a relação entre a biomassa microbiana (BMS) e o carbono orgânico total

(COT), assim sendo, é calculado pela divisão desses dois componentes (BANNING *et al.*, 2008; REIS JÚNIOR e MENDES, 2007).

Pontualmente, refere-se que o qMIC reflete a biodisponibilidade de carbono para os microrganismos, a entrada de matéria orgânica no solo, a eficiência na conversão do carbono em biomassa microbiana e a estabilização do carbono pela fração mineral do solo (ANDERSON e DOUSCH, 1989; SPARLING, 1992).

Portanto, o quociente microbiano indica a melhor qualidade do solo e maior eficiência das comunidades microbianas no uso do carbono da matéria orgânica do solo. Em concordância com Feitosa Júnior *et al.*, (2019), valores elevados de qMIC demonstram maior quantidade de matéria orgânica e promoção da atividade microbiana do solo, enquanto menores valores representam menores reservas de compostos orgânicos.

#### 5.1.5 Atividade Enzimática do Solo

Kandeler (2007, p. 72) define que "as enzimas são proteínas especializadas que se combinam com um substrato específico e atuam para catalisar uma reação bioquímica." Nesse contexto, conforme destacado por Cardoso e Andreote (2016), em uma célula, cada enzima interage com um substrato específico, formando temporariamente um complexo enzima-substrato. Que, como resultado dessa interação, ocorre uma diminuição da energia de ativação necessária para que aconteça uma reação.

Dado isso, as enzimas, ao atuarem como biocatalisadores que aumentam significativamente a velocidade das reações químicas, têm se tornado muito importantes na determinação da atividade enzimática do solo, uma vez que são as responsáveis pela formação de moléculas orgânicas estáveis que contribuem para a estabilidade do ecossistema, ajudando na transformação de energia e processos como a ciclagem de nutrientes (BURNS e DICK, 2002; KANDELER, 2007; DAS e VARMA, 2011).

Concomitantemente, é possível dizer que a atividade enzimática do solo é o resultado do somatório da atividade enzimática dos organismos vivos e das enzimas abióticas que se acumulam no solo (MENDES, SOUSA e REIS JÚNIOR, 2015). Portanto, ensaios enzimáticos que catalisam transformações específicas de substrato podem ser úteis para determinar os efeitos do manejo do solo, do uso da terra e de condições ambientais específicas.

Da mesma forma, tal como indicado por Sancho (2008), as enzimas ao participarem de vários ciclos de nutrientes incluindo os ciclos do nitrogênio, fósforo, carbono e enxofre, funcionam para mensurar a QS, no sentido de que as mudanças nas principais funções e atividades podem fornecer informações essenciais como, por exemplo, as condições do solo no gerenciamento da terra.

No obstante, cumpre salientar que a atividade de uma enzima, ao indicar quão rapidamente ela catalisa a conversão de um substrato em produto, pode ser influenciada por diversos fatores, como temperatura, força iônica, pH e concentração dos componentes nos ensaios, dado que, as enzimas apresentam melhores resultados dentro de determinados rangos e condições específicas (ZALDUEGUI, 1975; SOBUCKI *et al.*, 2021; SIGMA-ALDRICH, 2024). Por tanto, é desafiador avaliar o estado do solo baseando-se apenas em um único valor de atividade enzimática. Contudo, os valores obtidos podem ser utilizados em conjunto com outros indicadores para determinar, por exemplo, as condições gerais do solo (SANCHO, 2008).

Em vista disso, de forma geral, é fundamental mencionar que as avaliações de dados dos bioindicadores da QS (biomassa microbiana, respiração basal, quociente metabólico, quociente microbiano e atividade enzimática) devem ser realizados em conjunto com outros indicadores como os biológicos, físicos ou químicos a fim de possibilitar uma correta compreensão e interpretação das condições do solo (BROOKES, 1995; TANG *et al.*, 2006).

#### *5.1.5.1 Principais enzimas relacionadas à atividade enzimática do solo*

As enzimas presentes no solo são produzidas por plantas e diversos microrganismos, como bactérias e fungos, dado isso se diz que estão associadas à vida das células metabolicamente ativas (enzimas bióticas) ou em células mortas de tecidos microbianos e vegetais (enzimas abióticas) (GREGORICH *et al.*, 1994).

Dado isso, é possível argumentar que a mensuração da atividade enzimática é essencial, visto que fornece informações valiosas sobre a atividade microbiana, servindo como um indicador chave da saúde do solo. As enzimas mais comumente analisadas no solo são aquelas que têm uma função crucial nos ciclos de C, N, P e S (KARACA *et al.*, 2011; MATSUOKA, 2006), devido à sua relação com a mineralização de nutrientes essenciais, desenvolvimento de processos de degradação de

matéria orgânica, liberação de nutrientes, catalisação na transferência de elétrons entre moléculas e síntese de matéria orgânica. Destacando (Quadro 4), as hidrolases (como ureases, arilsulfatases e fosfatases), as oxirredutases (como desidrogenases, lacases e peroxidases) e as liases (AON *et al.*, 2001; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

**Quadro 4** - Visão geral das principais enzimas estudadas no solo

Enzima	Reação enzimática	Atividade indicadora	Substrato usado na determinação	Referência
Amidase	Mineralização do N	Ciclagem de nitrogênio	Formamida	Frankenberger e Tabatabai (1980)
Arilsulfatase	Liberação de $\text{SO}_4^-$	Ciclagem de enxofre	P-nitrofenil sulfato	Klose e Tabatabai (1999) Tabatabai e Bremner (1969)
Betaglicosidase	Hidrólise da celobiose	Ciclagem de carbono	P-nitrofenil- $\beta$ -glicopiranosídeo	Lynd <i>et al.</i> (2002) Baldrian e Valášková (2008) Eivazi e Tabatabai (1988)
Celulase	Hidrólise de celulose	Ciclagem de carbono	Carboximetil celulose	Schinner e Von Mersi (1990)
Desidrogenase	Sistema de transporte de elétrons	Atividade microbiana	Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC)	Casida, Klein e Santoro (1964)
Fosfatase ácida	Liberação de $\text{PO}_4^-$	Ciclagem de fósforo	P-nitrofenil fosfato	Tabatabai e Bremner (1969) Eivazi e Tabatabai (1976)
Urease	Hidrólise da uréia	Ciclagem de nitrogênio	Uréia	Klose e Tabatabai (1999) Kandeler e Gerber (1988)

Fonte: Adaptado de ARAÚJO e MONTEIRO (2007); BALDRIAN (2009) e TÓTOLA e CHAER (2002).

A amidase é uma enzima importante no ciclo do nitrogênio responsável por catalisar a hidrólise de amidas atuando nas ligações C-N não peptídicas, resultando em ácido carboxílico e amônia, (FRANKENBERGER e TABATABAI, 1980). Esta enzima está distribuída na natureza, sendo encontrada em uma variedade de organismos, como, animais, plantas (folhas de milho, alfafa, soja, etc) e microorganismos (bactéria e fungos) (FRANKENBERGER e TABATABAI, 1980; CLARKE, 1969). Por sua parte, de acordo com as observações de Matsuoka (2006), a amidase é sensível a mudanças no manejo do solo, dado isso, é um possível indicador das alterações que ocorrem nele.

As arilsulfatases segundo Kertész e Mirleau (2004), são enzimas extracelulares que catalisam a hidrólise dos ésteres de sulfato orgânico, além de catalisar a hidrólise de p-nitrofenil sulfato. Esta enzima tem sido detectada em plantas, animais e microrganismos (KLOSE, MOORE e TABATABAI, 1999; TABATABAI e BREMNER, 1969) e tem sido amplamente estudada como importante enzima do solo, dado que a atividade total da enzima está correlacionada com a biomassa microbiana, e com a taxa de imobilização de S (KLOSE e TABATABAI, 1999; VONG *et al.*, 2003; BANDICK e DICK, 1999). Com base nisso, a avaliação da sua atividade pode fornecer informações sobre a mineralização e a transformação dos compostos de S no solo, essenciais para a nutrição da planta (ACOSTA-MARTÍNEZ *et al.*, 2011; KNAUFF, SCHULZ e SCHERER, 2003).

As betaglicosidases são enzimas extracelulares, caracterizadas por serem as principais glicosidases do solo envolvidas na degradação de componentes de C (SARDANS e PEÑUELAS, 2005) cuja ação é essencial na liberação de nutrientes da matéria orgânica. De conformidade com Veena *et al.*, (2011), as betaglicosidases estão amplamente distribuídas entre plantas, animais, fungos, bactérias e leveduras, e sua atividade tem sido utilizada para avaliar a qualidade do solo sob diferentes práticas de manejo (DONI *et al.*, 2012) ao utilizar p-nitrofenil- $\beta$ -glicopiranosídeo como substrato na determinação de sua atividade.

A celulase é uma enzima produzida por microrganismos e plantas, sendo os fungos os principais microrganismos que secretam essa enzima (ANDERSSON, KJOLLER e STRUWE, 2004). A celulase catalisa a hidrólise da celulose, clivando-a em unidades de celobiose, que são posteriormente hidrolisadas pela  $\alpha$ -glicosidase, resultando em moléculas de glicose (BALOTA *et al.*, 2013).

As enzimas desidrogenases catalisam a oxidação de substratos orgânicos e têm importante função no estado inicial de oxidação da matéria orgânica (CAMIÑA *et al.*, 1998; CASIDA, KLEIN e SANTORO, 1964). Conforme afirmado por Das e Varma (2011), as desidrogenases oxidam a matéria orgânica do solo transferindo prótons e elétrons dos substratos para os aceitadores. E, de acordo com Balota *et al.* (2013, p. 25), “os estudos sobre atividade das desidrogenases podem dar indicações do potencial do solo para manter os processos biológicos, que são essenciais para a sua fertilidade e sustentabilidade”.

As fosfatases são enzimas que têm um papel fundamental no ciclo do P nos solos, sendo correlacionadas com a deficiência de P e o crescimento das plantas; essas enzimas são secretadas no solo por raízes de plantas e microrganismos, como bactérias, fungos ou protozoários, em resposta a uma demanda por P, ou liberadas passivamente pelas células em decomposição (QUIQUAMPOIX e MOUSAIN, 2005; CRIQUET e BRAUD, 2008). Especificamente, as fosfatases catalisam a hidrólise do éster e anidridos de fosfato e são classificadas em grandes grupos de acordo com os compostos que hidrolisam, como fosfomonoesterases (incluindo a fosfatase ácida e alcalina), fosfodiesterases, fosfotriesterases, metafosfatases e pirofosfatases. No entanto, é importante mencionar que a maioria dos estudos sobre fosfatases relatam o comportamento da fosfatase ácida, já que muitos solos utilizados na agricultura são caracterizados por serem ácidos (BALOTA *et al.*, 2013).

As ureases participam do ciclo do nitrogênio, contribuindo para liberação de N inorgânico e catalisam a hidrólise da uréia para CO<sub>2</sub> e amônia, através de um mecanismo de reação baseado na formação de carbamato como intermediário, os quais são assimilados por microrganismos e plantas (KIZILKAYA e BAYRAKLI, 2005; TABATABAI, 1982). Dado isso, em concordância com Polacco (1977) e Mobley e Hausinger (1989), a urease é encontrada na natureza estando principalmente presente em plantas e microrganismos onde a enzima é encontrada tanto intra e extracelularmente, sendo caracterizada por ser altamente específica e resistente à degradação ambiental.

Finalmente, é oportuno referir que, de acordo com Bolton *et al.*, (1985) e Mendes *et al.*, (2021), uma estimativa simultânea de várias atividades enzimáticas no solo poderia ser um indicador adequado da atividade microbiana do solo.

#### 5.1.5.2 Técnicas de detecção de atividade enzimática

Existem diversos métodos padronizados aplicáveis para detectar uma vasta gama de enzimas no solo. Geralmente, indica-se que os procedimentos para determinar a atividade enzimática empregam soluções tamponadas contendo um substrato específico, que é misturado com o solo para, posteriormente, quantificar o potencial enzimático na amostra. No entanto, os processos de identificação podem diferir em termos de técnica, podendo ser realizados através de múltiplos métodos, como, espectrofotometria, fluorescência, radiomarcagem, entre outros (TABATABAI, 1994; ALEF e NANNIPIERI 1995; SCHINNER *et al.*, 1996).

Especificamente, a espectrofotometria, na detecção do potencial enzimático do solo, funciona através de produtos de reações enzimáticas que absorvem luz na região visível ou ultravioleta do espectro. Tais reações podem ser mensuradas por meio de reações cromáticas simples. Alguns exemplos de enzimas que podem ser detectadas por este método incluem desidrogenases, celulasas (envolvidas na ciclagem de carbono) e urease (envolvida na ciclagem de nitrogênio). Por outro lado, a técnica de detecção por fluorescência é geralmente usada para testar enzimas extracelulares no solo. Nesse método, os substratos são conjugados com compostos altamente fluorescentes, e a fluorescência é observada após a clivagem enzimática das moléculas complexas. Este método é comumente utilizado para testar enzimas como  $\beta$ -D-glucosidase,  $\beta$ -D-galactosidase,  $\beta$ -celobiase,  $\beta$ -xilosidase (todas envolvidas na ciclagem de carbono), fosfatase ácida (envolvida na ciclagem de fósforo) e arilsulfatases (envolvidas na ciclagem de enxofre) (KANDELER, 2007).

## 5.2 SELEÇÃO DE BIOINDICADORES

Com base na fundamentação teórica, sintetizada a partir do levantamento bibliográfico, constatou-se que os bioindicadores mais estudados na avaliação da qualidade do solo são aqueles baseados na determinação da atividade enzimática, pois eles fornecem informações valiosas sobre a atividade microbiana e atuam como indicadores-chave da saúde do solo. Diante disso, para a realização deste Trabalho de Conclusão de Curso, esse bioindicador foi selecionado para avaliar, *in vitro*, sua eficácia na determinação da qualidade do solo em diferentes amostras.

De tal modo, para a determinação da atividade enzimática, foram selecionadas as enzimas arilsulfatase e betaglicosidase; essa escolha baseou-se com o intuito de obter uma estimativa simultânea da atividade dessas enzimas, que, nos últimos anos, têm ganhado relevância devido à sua especificidade e sensibilidade na detecção antecipada de alterações no solo, sendo consideradas bases importantes para a avaliação da qualidade do solo do ponto de vista agrícola, uma vez que estão associadas ao rendimento, à fertilidade e ao potencial produtivo, desempenhando a sua vez papéis fundamentais nos ciclos de enxofre e carbono respectivamente (BOLTON *et al.*, 1985; MENDES *et al.*, 2020; MENDES *et al.*, 2021; MACHADO, 2024).

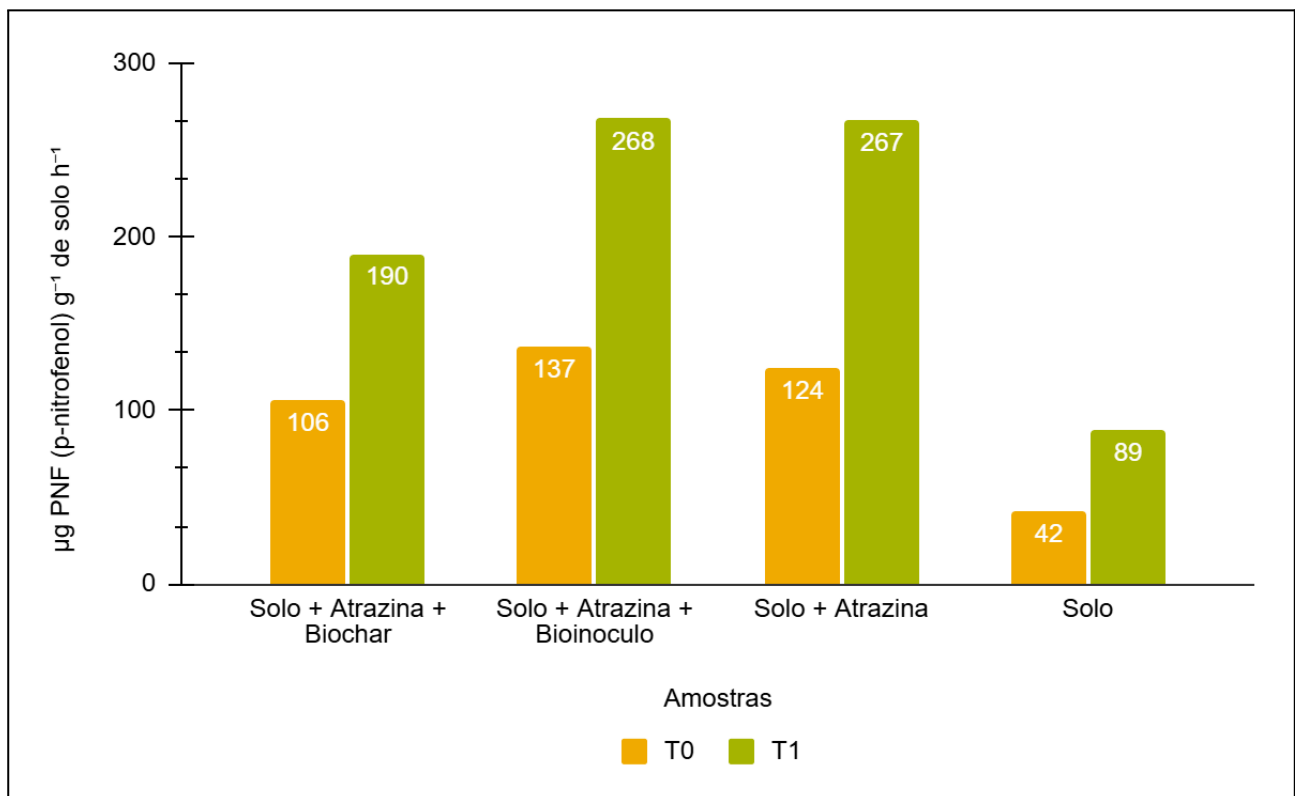
Especificamente, a arilsulfatase ao apresentar atividade correlacionada com a biomassa microbiana e a taxa de imobilização de enxofre, é um bioindicador

relevante da mineralização e transformação de compostos sulfurados no solo, processos que são cruciais para a nutrição das plantas. Já a betaglicosidase, ao desempenhar um papel central na decomposição da matéria orgânica, promove a liberação de nutrientes essenciais, podendo ser amplamente utilizada para avaliar a qualidade do solo sob diferentes práticas de manejo (TABATABAI, 1994; MENDES *et al.*, 2021; LOPES *et al.*, 2013). Dessa forma, a utilização dessas enzimas como bioindicadores possibilitará identificar os benefícios e/ou prejuízos presentes no solo, contribuindo para uma avaliação mais precisa da sua qualidade.

### 5.3 AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE ARILSULFATASE E DE BETAGLICOSIDASE

Neste estudo, por meio da análise da atividade enzimática, observou-se que os valores de arilsulfatase apresentaram variações entre os dois tempos analisados (Gráfico 2).

**Gráfico 2** - Valores de atividade de arilsulfatase nos oito tratamentos, coletados a uma profundidade de 20 cm, entre dezembro de 2024 e janeiro de 2025



Fonte: Própria autoria (2025).

Em relação ao tempo inicial (T0), observou-se que os tratamentos: solo com atrazina; solo com atrazina e bioinoculante fúngico; e solo com atrazina e biochar;

apresentaram diferenças na atividade enzimática quando comparados ao controle (apenas solo). Tais variações podem ser atribuídas à adição de agentes exógenos ao solo, evidenciadas, sobretudo, pelo aumento significativo da atividade enzimática na presença de atrazina no solo, cuja variação foi de 42 a 124  $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$  de solo  $\text{h}^{-1}$ . Resultado que, está em consonância com o estudo de Eivazi, Mullings e Banks (2018), que investigaram o impacto de herbicidas, como a atrazina, em diferentes atividades enzimáticas, incluindo a arilsulfatase, cujo análise demonstrou que a atrazina aumentava a atividade dessa enzima. Portanto, é possível referir que a adição de atrazina ao solo proporcionou aos microrganismos presentes uma fonte adicional de carbono e nitrogênio, favorecendo o crescimento microbiano e, conseqüentemente, a produção enzimática.

Alternativamente, constatou-se que a combinação de atrazina e bioinoculante fúngico no solo resultou em uma maior atividade enzimática dentre os tratamentos avaliados, indicando um possível efeito benéfico do bioinoculante na qualidade microbiológica do solo. Sendo que, esse efeito está associado a uma maior taxa de degradação de contaminantes pelos microrganismos, conforme descrito por Bonassa (2021), o que pode ter contribuído para o aumento da atividade enzimática.

Por outro lado, de conformidade com Ralebitso e Orr (2016), o biochar é um tipo de carvão produzido a partir de biomassa que pode provocar alterações nas propriedades do solo, promovendo o aumento da produção de biomassa, o acúmulo de nutrientes e, até mesmo, incrementar a massa de nódulos em plantas como a soja (MOHAMED *et al.*, 2017). No entanto, embora esse composto possa apresentar potencial para melhorar as condições edáficas, conforme destacado por Miranda *et al.*, (2017), no presente estudo identificou-se que, quando associado a atrazina, o tratamento teve uma redução da atividade enzimática em comparação aos demais tratamentos avaliados (excluindo o controle). Isso pode ser atribuído a vários fatores, entre eles, a absorção de compostos orgânicos de enxofre pelo biochar, resultando em uma diminuição da atividade enzimática. Ou, de maneira diferente, que, foi detectada uma atividade baixa porque a arilsulfatase, que atua na mobilização de enxofre a partir de compostos orgânicos, pode não ser tão fortemente estimulada pelo biochar, já que sua atividade depende mais da forma e da disponibilidade dos compostos orgânicos de enxofre. Dessa forma, essa enzima não seria tão expressa em tratamentos que contenham esses compostos, sendo assim, melhor detectada em outros tipos de tratamentos. Em razão disso, pode-se mencionar que, nesse tratamento, é possível que uma outra enzima, como a

betaglicosidase, tenha maior eficiência, já que essa enzima é influenciada diretamente pelo teor de carbono no solo. Conforme Ferreira *et al.*, (2015), solos tratados com biocarvão podem apresentar maiores quantidades de betaglicosidase, pois no estudo que avaliou o efeito da aplicação de 12 (doze) materiais de biocarvão em Neossolo Quartzarênico quanto à atividade da betaglicosidase, demonstrou-se que biocarvões podem favorecer a produção dessa enzima.

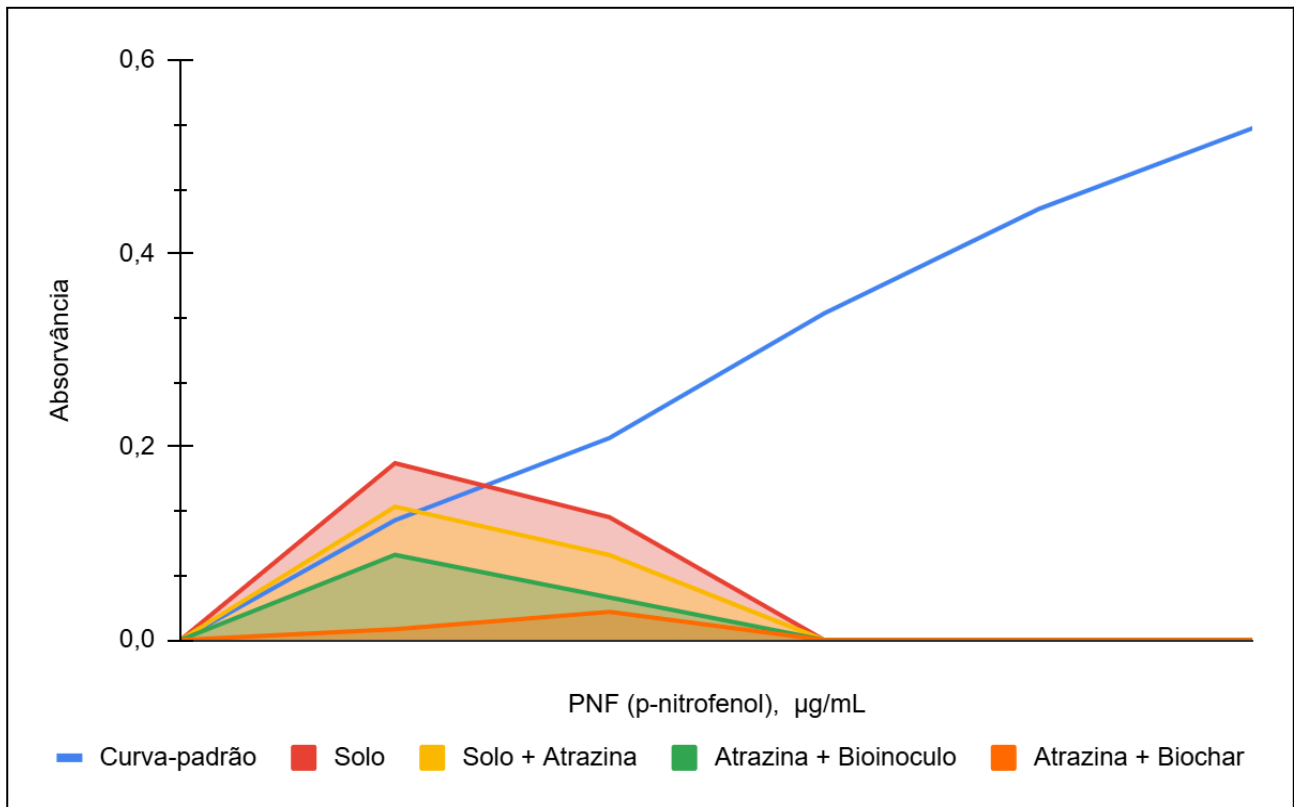
De outro modo, em referência ao T1, foi possível evidenciar que a atividade de arilsulfatase apresentou valores mais elevados em relação ao T0. Esses resultados podem ser atribuídos primordialmente ao impacto do crescimento vegetal, que influenciou diretamente o aumento da arilsulfatase. Como corroborado por Castellano e Dick (1990), que destacam que a atividade de arilsulfatase é maior em solos cultivados em comparação com solos sem cultivo. Variações que a sua vez podem ser atribuídas à presença de raízes de plantas vivas, que estimulam especificamente a atividade dessa enzima (KNAUFF, SCHULZ e SCHERER, 2003). Concomitantemente, é fundamental destacar que o T1 apresentou um perfil de variação no qual foi possível evidenciar e confirmar que a atrazina impactou no aumento da atividade enzimática, reforçando a influência de fatores biológicos e químicos na modulação da arilsulfatase.

Em contrapartida, é importante mencionar que, de acordo com Lopes (2012), os valores de arilsulfatase são classificados da seguinte forma: baixos quando iguais ou inferiores a  $40 \mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$  de solo  $\text{h}^{-1}$ , moderados quando variam de 41 a  $90 \mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$  de solo  $\text{h}^{-1}$  e altos quando superiores a  $90 \mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$  de solo  $\text{h}^{-1}$ . Dessa forma, determinou-se que a amostra de solo (controle) apresentou atividade moderada nos tempos T0 e T1, enquanto as demais amostras registraram valores correspondentes a uma atividade alta nos dois tempos analisados, apesar das diferenças assinaladas entre os tratamentos.

Sob outra perspectiva, no que se refere à betaglicosidase, foi possível determinar a atividade enzimática dessa enzima apenas na amostra de solo coletada no T0, com um valor de  $14 \mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  de solo  $\text{h}^{-1}$ . Nas demais amostras analisadas, tanto do T0 quanto do T1, não foi possível quantificar a atividade enzimática da betaglicosidase. Em razão de que, as leituras de absorvância das amostras a 410 nm, realizadas no espectrofotômetro, estavam fora do intervalo linear da curva de calibração de p-nitrofenol, curva que é fundamental para a quantificação da enzima, pois estabelece

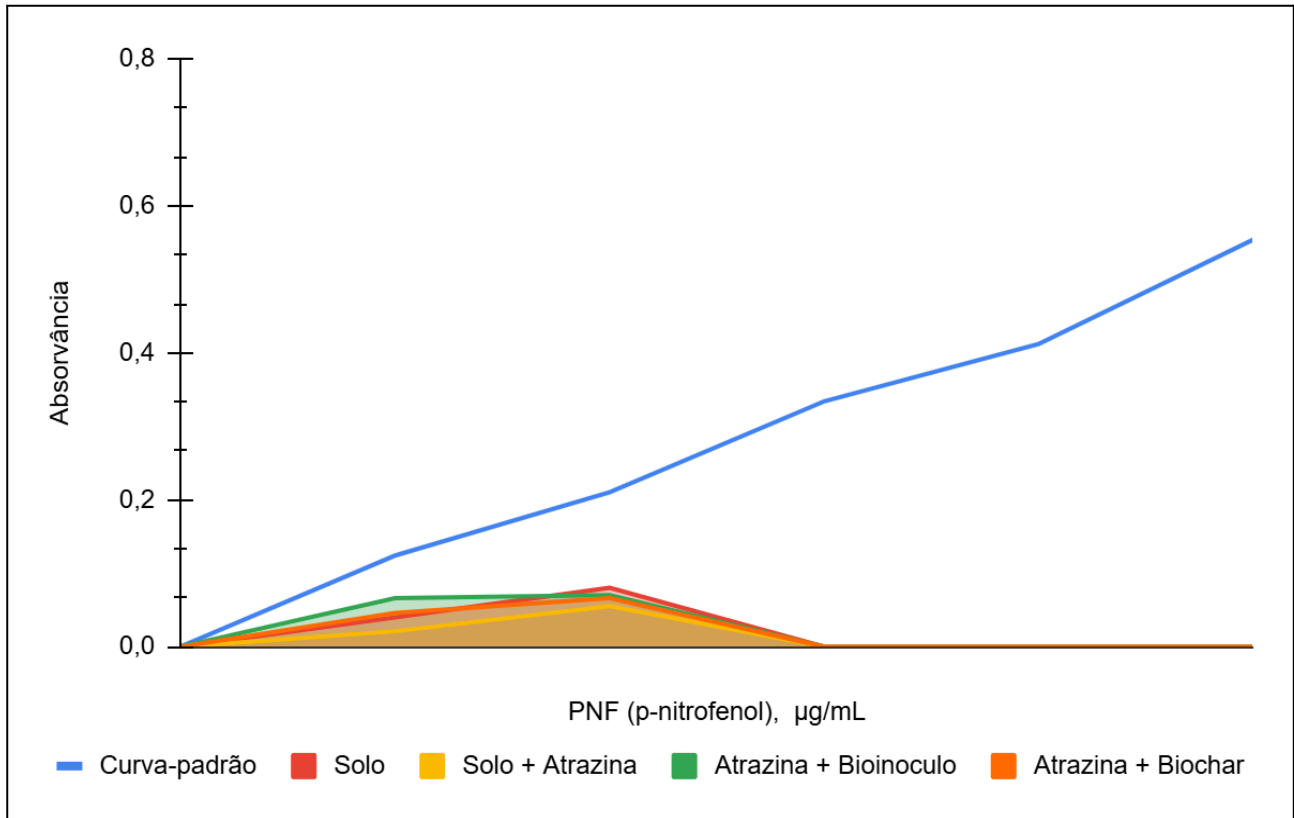
a relação entre a concentração de p-nitrofenol liberado e a atividade da betaglicosidase. Como pode ser observado nos Gráficos 3 e 4, onde os valores de absorvância das amostras estavam muito abaixo dos valores da curva de calibração. Assim, a ausência de leituras dentro do intervalo calibrado impossibilitou a obtenção de resultados precisos, comprometendo a determinação da enzima nas restantes amostras.

**Gráfico 3** - Análise combinada da curva de calibração com as absorvâncias obtidas para cada amostra analisada no tempo zero (T0), referente à atividade de betaglicosidase



Fonte: Própria autoria (2025).

**Gráfico 4** - Análise combinada da curva de calibração com as absorvâncias obtidas para cada amostra analisada no tempo um (T1), referente à atividade de betaglicosidase



Fonte: Própria autoria (2025).

Considerando isso, pode-se dizer que a ausência de detecção da atividade enzimática da betaglicosidase nas amostras analisadas, com exceção da amostra de solo coletada no T0, pode ser atribuída a diversos fatores que impactaram diretamente a precisão e a sensibilidade das análises. Um dos principais fatores que podem ter influenciado os resultados obtidos está relacionado à presença de atrazina como composto xenobiótico. De acordo com Mahía *et al.*, (2007), a atividade de betaglicosidase é inadequada para avaliar os efeitos da atrazina no solo, uma vez que a quantificação dessa enzima apresenta resultados inconsistentes, dificultando o estabelecimento de uma relação de causa e efeito entre o composto e a atividade enzimática. Assim, a presença de atrazina em todos os tratamentos (exceto no controle) pode ter gerado variações na detecção de betaglicosidase, tornando essa enzima um bioindicador pouco confiável para avaliar o impacto na qualidade do solo.

Em adição, considerando que a atividade da betaglicosidase depende da integridade das comunidades microbianas do solo, a presença de resíduos de atrazina

pode ter comprometido esse equilíbrio. Estudos realizados por Voets, Meerschman e Verstkaetf (1974), demonstraram que a atrazina era capaz de modificar drasticamente as comunidades do solo. Dessa forma, é possível inferir que tais alterações, produzidas pela atrazina, conseguiram afetar as comunidades responsáveis pela liberação de açúcares de baixo peso molecular, as quais estavam associadas diretamente à atividade da betaglicosidase, levando assim a uma redução ou inibição da atividade enzimática.

Além disso, outro fator que pode ter contribuído para a não detecção da atividade da betaglicosidase pode estar relacionado a eficiência na recuperação do p-nitrofenol, uma vez que a combinação de reagentes utilizada para interromper a reação enzimática pode interferir significativamente na detecção das enzimas no solo. Segundo Margenot, Nakayama e Parikh (2018), a escolha do reagente para estabilização do p-nitrofenol é crucial. Em estudos sobre análises enzimáticas do solo, os autores observaram que a utilização conjunta de Tris (pH 12) e  $\text{CaCl}_2$  resultou em uma recuperação inferior de PNF, pois o Tris demonstrou menor eficácia na extração de PNF no solo, levando assim à subestimação da atividade enzimática. Esse efeito pode justificar os valores de absorvância obtidos abaixo do intervalo linear da curva de calibração observados neste estudo.

Por fim, outro aspecto a ser considerado é o bloqueio dos sítios ativos da enzima pelas partículas do solo. O que pode ser constatado de acordo com Yan *et al.*, (2010) quem observou que a imobilização da betaglicosidase nas partículas do solo resultava na obstrução dos sítios ativos, reduzindo significativamente sua capacidade catalítica, destacando a sua vez que, a adsorção e a imobilização da enzima em partículas finas do solo poderia influenciar de maneira relevante sua atividade, pois embora as partículas finas tendem a absorver uma maior quantidade de enzimas, a ligação entre a enzima e a superfície dessas partículas é menos estável, resultando em uma atividade enzimática baixa.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, conclui-se que, atualmente, não existem critérios universais para a seleção de bioindicadores na avaliação da qualidade do solo. No entanto, o uso de indicadores biológicos se mostra essencial, uma vez que esses parâmetros são altamente sensíveis às alterações que ocorrem no ambiente edáfico, podendo ser empregados, por exemplo, no monitoramento de diferentes práticas de manejo agrícola e na avaliação de sua qualidade.

Assim, o estudo evidenciou que a atividade enzimática, em particular, se destaca como um bioindicador de grande relevância para áreas como a agricultura, fornecendo informações valiosas sobre o estado funcional do solo. Especificamente, os resultados demonstraram que a atividade enzimática da arilsulfatase foi o bioindicador mais sensível às alterações no solo decorrentes das diferenças entre os tratamentos analisados, revelando-se como um bioindicador promissor para avaliar impactos gerados por práticas agrícolas.

Por sua parte, observou-se que os tratamentos que incorporaram atrazina apresentaram aumentos da atividade de arilsulfatase quando comparados ao controle sugerindo que a presença da atrazina estimulava a atividade microbiana do solo para essa enzima, o que reforçou a influência de fatores biológicos e químicos na modulação da arilsulfatase. Concomitantemente, verificou-se também que o tratamento constituído por solo, atrazina e bioinoculo foi favorecido no aumento da atividade dessa enzima, reforçando assim o potencial de uso de bioinoculantes como ferramentas para a recuperação de solos contaminados ou degradados, uma vez que podem exercer uma influência positiva na qualidade do solo. Por outro lado, considerando que a atividade da betaglicosidase demonstrou baixa sensibilidade às variações resultantes dos tratamentos, recomenda-se aprofundar o estudo da resposta microbiana à presença dos agentes exógenos adicionados ao solo (atrazina, biochar e bioinoculante fúngico) e avaliar, paralelamente, outra atividade enzimática que apresente uma correlação mais significativa os tratamentos estudados.

Por fim, deve-se mencionar que a literatura aponta que as técnicas laboratoriais empregadas para a determinação das atividades enzimáticas estudadas são de fácil execução. Contudo, na prática, foi possível constatar que, apesar dessa simplicidade aparente, o processo exige um rigoroso cuidado e padronização para

garantir a confiabilidade dos resultados. Considerando isso, pode-se concluir que, para uma interpretação mais abrangente e robusta dos dados, é recomendável a realização de análises conjugadas que considerem outros atributos, uma vez que é desafiador avaliar o estado do solo baseando-se apenas em um único valor de atividade enzimática.

## REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, L. J. O. Degradação do Solo e desertificação no nordeste do Brasil. **Portal Dia de Campo**, 22 jun. 2010.
- ACOSTA-MARTÍNEZ, V. et al. Dryland cropping systems influence the microbial biomass and enzyme activities in a semiarid sandy soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 47, n. 6, p. 655–667, 2011.
- ACTON, D. F.; PADBURY, G. A. **A program to assess and monitor soil quality in Canada. Soil Quality Evaluation Program Summary Report**. Ottawa, Canada. 1994.
- ADAMS, M. **Fundamentos de química de suelos**. Caracas: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, 1995.
- AFROZ, A. Soil Degradation: A Challenge to Sustainable Agriculture. **International Journal of Scientific Research in Agricultural Sciences**, v. 1, n. 4, p. 50–55, 2014.
- ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry**. 1. ed. London: Academic press, 1995.
- ALKORTA, I. et al. Soil Enzyme Activities as Biological Indicators of Soil Health. **Reviews on environmental health**, v. 18, n. 1, p. 65–73, 2003.
- ANDERSON, T.-H.; DOUSCH, K. H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 21, n. 4, p. 471–479, 1989.
- ANDERSSON, M.; KJØLLER, A.; STRUWE, S. Microbial enzyme activities in leaf litter, humus and mineral soil layers of European forests. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 10, p. 1527–1537, 2004.
- ANDRÉA, M. M. Bioindicadores ecotoxicológicos de agrotóxicos. **Hypertexto**, p. 1–6, 2008.
- AON, M. A. et al. I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. **Applied Soil Ecology**, v. 18, p. 239–254, 2001.
- ARAGÃO, D. V. DE et al. Avaliação de indicadores de qualidade do solo sob alternativas de recuperação do solo no Nordeste Paraense. **Acta Amazonica**, v. 42, n. 1, p. 11–18, 2012.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 3, p. 66–75, 2007.
- ARAÚJO, E. A. DE et al. Qualidade do solo: conceitos, indicadores e avaliação. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 5, n. 1, p. 187–206, 2012.
- BALDRIAN, P.; VALÁŠKOVÁ, V. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 32, n. 3, p. 501–521, maio 2008.
- BALOTA, E. L. et al. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation

systems in subtropical agro-ecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 300–306, 2004.

BALOTA, E. L. et al. Enzimas e seu papel na qualidade do solo. **Tópicos Ci. Solo**, v. 8, p. 221–278, 2013.

BANDICK, A. K.; DICK, R. P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, n. 11, p. 1471–1479, 1999.

BANNING, N. C. et al. Recovery of soil organic matter, organic matter turnover and nitrogen cycling in a post-mining forest rehabilitation chronosequence. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 8, p. 2021–2031, 2008.

BENAZZI, E.; LEITE, L. F. C. Solo e o complexo desafio da segurança alimentar. Em: **Solos sustentáveis para a agricultura no Nordeste**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2021. p. 25–52.

BLAGODATSKAYA, E.; KUZYAKOV, Y. Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: Critical review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 45, n. 2, p. 115–131, 2008.

BOLTON JR, H. et al. Soil microbial biomass and selected soil enzyme activities: effect of fertilization and cropping practices. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 17, n. 3, p. 297–302, 1985.

BONASSA, G. R. **Seleção de fungos para o desenvolvimento de bioinoculante para biorremediação de solos agrícolas impactados com atrazina**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia)—Foz do Iguaçu, Brasil: Universidade Federal da Integração Latino-Americana, 9 jun. 2021.

BORGES, A. L.; ACCIOLY, A. M. de A. **Amostragem de solo para recomendação de calagem e adubação**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasil. Embrapa, 2020.

BRADY, N. C.; WEIL, R. **Elements of the Nature and Properties of Soils**. 3. ed. [s.l.] Pearson Education Limited, 2014.

BRASIL, E. C.; CRAVO, M. DA S.; VELOSO, C. A. C. Amostragem do solo. Em: **Recomendações de calagem e adubação para o estado do Pará**. 2. ed. [s.l.] Embrapa, 2020. p. 47.

BRITO, I. Biodiversidade do solo representa mais de um quarto da diversidade da vida terrestre. **Florestas**, p. 1–6, 2021.

BROOKES, P. C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, v. 19, p. 269–279, 1995.

BURNS, R. G.; DICK, R. P. **Enzymes in the environment: activity, ecology, and applications**. 1. ed. New York: Marcel Dekker, 2002.

CALDERÓN, M. A.; MORENO, M. M.; BARRA, J. E. Derivación de indicadores de calidad de suelos en el contexto de la agricultura sustentable. **Agrociencia**, v. 36, n. 5, p.

605–620, 2002.

CAMIÑA, F. et al. Measurement of dehydrogenase activity in acid soils rich in organic matter. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30, n. 8/9, p. 1005–1011, 1998.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba, São Paulo: ESALQ, 2016.

CARVAJAL, R. R. **Propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos**. 1. ed. Sanáfe de Bogotá: Convenio FENALCE - SENA - SAC, 1997.

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

CASTELLANO, S. D.; DICK, R. P. Cropping and Sulfur Fertilization Influence on Sulfur Transformations in Soil. **Soil Science Society of America**, v. 54, p. 114–121, 1990.

CASTILLO, R. M. Sistemas de producción agrícola sostenible. **Tecnología en Marcha**, v. 22, p. 23–39, 2009.

CETESB. **Qualidade do solo**. Disponível em:

<<https://cetesb.sp.gov.br/solo/propriedades/#:~:text=As%20propriedades%20qu%C3%ADmicas%20dos%20solos,atenua%C3%A7%C3%A3o%20de%20poluentes%20nesse%20meio>>.

CHEN, J. et al. Soil degradation: a global problem endangering sustainable development. **Journal of Geographical Sciences**, v. 12, n. 2, p. 243–252, 2002.

CLARKE, P. H. The Aliphatic Amidases of *Pseudomonas aeruginosa*. **Advances in Microbial Physiology**, v. 4, p. 179–222, 1969.

COELHO, M. R.; BACA, J. F. M.; FIDALGO, E. C. C. **Solo**. Disponível em:

<<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/arroz/pre-producao/caracteristicas/solo>>.

COSTA LIMA, V.; LIMA, M. R. DE; MELO, V. DE F. **O solo no meio ambiente**. 1. ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. Departamento de Solos e Engenharia Agrícola., 2007.

CRIQUET, S.; BRAUD, A. Effects of organic and mineral amendments on available P and phosphatase activities in a degraded Mediterranean soil under short-term incubation experiment. **Soil and Tillage Research**, v. 98, n. 2, p. 164–174, 2008.

CRUZ, A. B. et al. La calidad del suelo y sus indicadores. **Ecosistemas**, v. 13, n. 2, p. 90–97, 2004.

DAS, S. K.; VARMA, A. Role of Enzymes in Maintaining Soil Health. **Soil Enzymology**, p. 25–42, 2011.

DELGADO, J. M.; PARRA, A. S.; ESCOBAR, N. E. **Bioindicadores en suelos y abonos orgánicos**. 1. ed. Ibagué: Sello Editorial Universidad del Tolima, 2019.

DIONÍSIO, J. A.; PIMENTEL, I. C.; SIGNOR, D. Biomassa microbiana. Em: **Guia prático**

**de biologia do solo.** Curitiba: Embrapa, 2016. p. 78–83.

DONI, S. et al. Isoelectric focusing of  $\beta$ -glucosidase humic-bound activity in semi-arid Mediterranean soils under management practices. **Biology and Fertility of Soils**, v. 48, n. 2, p. 183–190, 2012.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and Assessing Soil Quality. Em: **Defining Soil Quality for a Sustainable Environment**. 35. ed. Madison: Soil Science Society of America, 1994. v. 5.

DORAN, J. W.; ZEISS, M. R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology**, v. 15, n. 1, p. 3–11, 2000.

ECHAVE, M. A. S. **Morfología de los suelos.** Instituto de Agrimensura, 1934.

EIVAZI, F.; MULLINGS, N.; BANKS, M. L. Effect of Select Surfactants on Activities of Soil Enzymes Involved in Nutrient Cycling. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 49, n. 3, p. 371–379, 4 fev. 2018.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Glucosidases and galactosidases in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 20, p. 601–606, 1988.

EIVAZI, F.; TAHATAHAI, M. A. Phosphatases in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 9, p. 167–172, 1976.

EL-AZIZ, S. H. A. Soil capability and suitability assessment of tushka area, egypt by using different programs (asle, microleis and modified storie index). **Malaysian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 2, n. 2, p. 09–15, jan. 2018.

EMBRAPA. **Solos tropicais.** Portal Embrapa, 2022.

EOS DATA ANALYTICS. **Conservación Del Suelo: Cómo Manejarla E Implementarla.** 2021. Disponível em: <<https://eos.com/es/blog/conservacion-del-suelo/>>

FAO. **World's Soil Resources.** [s.l.] FAO, 2015. Disponível em: <[www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications)>.

FAO. **Directrices voluntarias para la gestión sostenible de los suelos.** 2017.

FAO. **Solos saudáveis para as pessoas e para o planeta: FAO pede reversão da degradação do solo.** 2022. Disponível em: <<https://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/fr/c/1472352/>>

FARIA, V. L. DE; MELLONI, R.; MELLONI, E. G. Qualidade do Solo sob Cultivo de Banana em Sistemas de Produção Orgânico e Convencional em Gonçalves (MG). **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 14, n. 3, p. 1206–1219, 2021.

FEITOSA JÚNIOR, F. R. et al. Sistemas de manejo e parâmetros da matéria orgânica de um solo do cerrado baiano, Brasil. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 3, p. 298–312, jul. 2019.

FERREIRA, G. DE A. et al. Determinação da atividade da enzima  $\beta$ -Glicosidase em

Neossolo Quartzarênico com uso de diferentes tipos de biocarvão. **Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, p. 1–4, 2015.

FERRERAS, L. et al. Parámetros químicos y biológicos como indicadores de calidad del suelo en diferentes manejos. **Ciencia del Suelo**, v. 27, n. 1, p. 103–114, 2009.

FOTH, H. D. **Fundamentals of Soil Science**. 8. ed. New York: John Wiley & Sons, 1990.

FRANKENBERGER, W. T.; TABATABAI, M. A. Amidase Activity in Soils: I. Method of Assay. **Soil Science Society of America**, v. 44, p. 282–287, 1980.

GARBISU, C. et al. Bioindicadores de la calidad del suelo: herramienta metodológica para la evaluación de la eficiencia de un proceso fitorremediador. **Ecosistemas**, v. 16, n. 2, p. 1–6, 2007.

GARCÍA, Y.; RAMÍREZ, W.; SÁNCHEZ, S. Indicadores de la calidad de los suelos: una nueva manera de evaluar este recurso. **Pastos y Forrajes**, v. 35, n. 2, p. 125–138, 2012.

GOMÉZ, J. E. P. Actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos cafetaleros de los Andes venezolanos. **Terra Latinoamericana**, v. 36, n. 1, 22 jan. 2018.

GREGORICH, E. G. et al. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 74, n. 4, p. 367–385, 1994.

GUTIÉRREZ MONTERO, M. et al. Avaliação e propostas de melhoria de solos com diferentes usos numa área do Parque Natural de Montesinho, Portugal. **Spanish Journal of Soil Science**, v. 8, n. 1, p. 24–41, 2018.

HARTEMINK, A. E. The definition of soil since the early 1800s. Em: **Advances in Agronomy**. [s.l.] Academic Press Inc., 2016. v. 137p. 73–126.

HODGSON, J. **Muestreo y descripción de suelos**. Barcelona: Reverté, 1987.

IBAÑEZ, C.; PALOMEQUE, S.; FONTÚRBEL, F. Elementos principales del suelo, geodinámica y dinámica de los principales componentes del suelo. Em: **El recurso suelo: bases edafológicas, problemática, administración y contaminación**. 1. ed. [s.l.] Publicaciones Integrales, La Paz, 2004.

ISTOCK. **Soil horizons**. 2024.

JACTO. **Qualidade do solo: o que é, importância e como avaliar**. Disponível em: <<https://blog.jacto.com.br/qualidade-do-solo/>>.

JARAMILLO, D. F. **Introducción a la ciencia del suelo**. 1. ed. Medellín: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, 2002. v. 1

JONES, B. **Plant Nutrition and Soil Fertility Manual**. 2. ed. Boca Ratón, Florida, EE. UU.: CRC Press Taylor & Francis Group, 2012. v. 13

KANDELER, E. Physiological and biochemical methods for studying soil biota and their function. Em: **Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry**. [s.l.] Elsevier, 2007. p. 53–83.

- KANDELER, E.; GERBER, H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. **Biology and Fertility of Soils**, v. 6, p. 68–72, 1988.
- KARACA, A. et al. Soil Enzymes as Indication of Soil Quality. Em: **Soil Biology Soil Enzymology**. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2011. v. 22p. 119–148.
- KARLEN, D. L. et al. Soil Quality: A Concept, Definition, and Framework for Evaluation. **Soil Science Society of America**, v. 61, p. 4–10, 1997.
- KERTESZ, M. A.; MIRLEAU, P. The role of soil microbes in plant sulphur nutrition. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 404, p. 1939–1945, ago. 2004.
- KIZILKAYA, R.; BAYRAKLI, B. Effects of N-enriched sewage sludge on soil enzyme activities. **Applied Soil Ecology**, v. 30, n. 3, p. 192–202, 2005.
- KLOSE, S.; MOORE, J. M.; TABATABAI, M. A. Arylsulfatase activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. **Biology and Fertility of Soils**, v. 29, p. 46–54, 1999.
- KNAUFF, U.; SCHULZ, M.; SCHERER, H. W. Arylsulfatase activity in the rhizosphere and roots of different crop species. **European Journal of Agronomy**, v. 19, n. 2, p. 215–223, 2003.
- KONRAD, E. E.; CASTILHOS, D. D. Atividade microbiana em um planossolo após a adição de resíduos de curtume. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7, p. 131–135, 2001.
- LAMB, J. A. **Five factors of soil formation**. University of Minnesota, 2018.
- LEAL, V. A. DE O. et al. **A importância dos solos para o ecossistema**. p. 1–19, 2015.
- LEIVA, F. R. **Manejo sostenible de suelos agrícolas**. 1. ed. Senáfe Bogotá: Convenio FENALCE - SENA - SAC, 1998.
- LEPSCH, I. F. **19 lições de pedologia**. São Paulo: Oficina de Textos, 2011.
- LIMA, H. V. DE et al. Indicadores de qualidade do solo em sistemas de cultivo orgânico e convencional no semi-árido Cearense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 5, p. 1085–1098, 2007.
- LOPES, A. A. DE C. et al. Interpretation of Microbial Soil Indicators as a Function of Crop Yield and Organic Carbon. **Soil Science Society of America Journal**, v. 77, n. 2, p. 461–472, 2013.
- LYND, L. R. et al. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, n. 3, p. 506–577, 2002.
- MACHADO, A. W. **Entenda a Bioanálise do solo (BioAS) e como ela pode te ajudar**. 2024. Disponível em:  
<[http://www.infobibos.com.br/Artigos/2008\\_4/Bioindicadores/index.htm](http://www.infobibos.com.br/Artigos/2008_4/Bioindicadores/index.htm)>
- MAHÍA, J. et al. Atrazine degradation and enzyme activities in an agricultural soil under

two tillage systems. **Science of the Total Environment**, v. 378, n. 1–2, p. 187–194, 25 maio 2007.

MARGENOT, A. J.; NAKAYAMA, Y.; PARIKH, S. J. Methodological recommendations for optimizing assays of enzyme activities in soil samples. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 125, p. 350–360, 1 out. 2018.

MASERA, O.; ASTIER, M.; RIDAURA, S. L. **Sustentabilidad y manejo de recursos naturales**. Michoacán, México: Grupo interdisciplinario de tecnologia ruel apropiada, 1999.

MASSOBRIO, M. J.; IRIGOIN, J.; CASSANI, M. T. **Evaluación de tierras**. , 2019.

MASTO, R. E. et al. Changes in soil biological and biochemical characteristics in a long-term field trial on a sub-tropical inceptisol. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n. 7, p. 1577–1582, 2006.

MATSUOKA, M. **Atributos biológicos de solos cultivados com videira na região da Serra Gaúcha**. Porto Alegre Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

MAURYA, S. et al. Indicators for assessment of soil quality: a mini-review. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 9, 2020.

MELLONI, R. Quantificação Microbiana da Qualidade do Solo. Em: **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. v. 1p. 193–218.

MELLONI, R. et al. Avaliação da qualidade de solos sob diferentes coberturas florestais e de pastagem no sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 6, p. 2461–2470, 2008.

MELO, R. F. DE et al. Uso e manejo do solo. Em: **Agricultura familiar dependente de chuva no Semiárido**. Brasília: Embrapa, 2019. p. 395–444.

MENDES, I. C. et al. Bioanálise de solo: como acessar e interpretar a saúde do solo. **Portal Embrapa**, p. 1–24, 2018.

MENDES, I. C. et al. Bioanálise de solo: a mais nova aliada para a sustentabilidade agrícola. p. 1–11, 2020.

MENDES, I. DE C. et al. Tecnologia BioAS Uma maneira simples e eficiente de avaliar a saúde do solo. **Portal Embrapa**, p. 1–50, fev. 2021.

MENDES, I. DE C.; SOUSA, D. M. G. DE; REIS JUNIOR, F. B. DOS. Bioindicadores de qualidade de solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 32, n. 1/2, p. 191–209, 2015.

MILLER, M.; DICK, R. P. Thermal stability and activities of soil enzymes as influenced by crop rotations. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, n. 9, p. 1161–1166, 1995.

MIRANDA, N. D. O. et al. Carvão vegetal como condicionador de solo na sucessão arroz e feijão-caupi adubados com nitrogênio. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 2, p. 313–323, 2017.

MOBLEY, H. L. T.; HAUSINGER, R. P. Microbial Ureases: Significance, Regulation, and

Molecular Characterization. **American Society for Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 85–108, 1989.

MOHAMED, I. et al. Interactive effects of biochar and micronutrients on faba bean growth, symbiotic performance, and soil properties. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 180, n. 6, p. 729–738, 1 dez. 2017.

MONTESANTI, J. DE A. C. **Bioindicadores**. [s.d.]. Disponível em: <<https://www.infoescola.com/ecologia/bioindicadores/>>.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. Brasil: Universidade Federal de Lavras, 2006. v. 2

MUÑOZ-ROJAS, M. Soil quality indicators: critical tools in ecosystem restoration. **Current Opinion in Environmental Science and Health**, v. 5, p. 47–52, 15 fev. 2018.

NOVAK, E. et al. Biomass and microbial activity of soil under different vegetal surfaces in The Cerrado - Atlantic Rainforest. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 15, n. 3, jul. 2022.

O'GEEN, A. T. **A Revised Storie Index for Use with Digital Soils Information**. 2008. Disponível em: <<http://anrcatalog.ucdavis.edu/Publication8335/>>.

ORTIZ, R. **El cambio climático y la producción agrícola**. 2012. Disponível em: <<http://www.iadb.org>>

OUR WORLD IN DATA. **Agricultural area over the long-term**. 2023.

PARDINA, M.; GASCÓN, B. **Sector Agropecuario en Brasil: Oportunidades para exportación de productos y servicios auxiliares**. [s.d.]. Disponível em: <<https://h2gconsulting.com/how2go-brasil/sector-agropecuario-brasil/#:~:text=Hoy%2C%20la%20superficie%20del%20territorio,que%20en%202017%20por%20ejemplo>>.

PINHEIRO, A. D. de S. et al. Influência de diferentes sistemas de produção na qualidade do solo no município de Paragominas-PA. **Amazon Soil**, 2016.

PINTO, L. A. DA S. R. et al. Biomassa microbiana como indicador de qualidade do solo sob diferentes coberturas vegetais. Em: **Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável 2**. Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. p. 184–195.

PNGTREE. **Camada de solo infográfico terra subterrânea**. 2024.

POLACCO, J. C. Is nickel a universal component of plant ureases? **Plant Science Letters**, v. 10, p. 249–255, 1977.

PORTO, J.; MERINO, M. **Bioanálisis**. 2023. Disponível em: <<https://definicion.de/bioanalisis/>>

QUIQUAMPOX, H.; MOUSAIN, D. Enzymatic Hydrolysis of Organic Phosphorus. Em: TURNER, B.; FROSSARD, E.; BALDWIN, D. (Eds.). **Organic phosphorus in the environment**. Massachusetts: CABI Publishing, 2005. p. 89.

RALEBITSO-SENIOR, T. KOMANG.; ORR, C. H. . **Biochar application: essential soil**

**microbial ecology**. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2016.

RAO, M. A. et al. Enzymes as useful tools for environmental purposes. **Chemosphere**, v. 107, p. 145–162, 2014.

REIS JUNIOR, F. B. DOS; MENDES, I. DE C. Biorresíduo Microbiano do Solo. **Portal Embrapa**, dez. 2007.

RITCHIE, H.; ROSER, M. Land Use. **Our World in Data**, 2019. Disponível em: <<https://ourworldindata.org/land-use>>

ROCHA, A. F. B. et al. Indicadores de Qualidade do Solo em Sistemas Agroecológicos no Cerrado Mineiro. **Sociedade & Natureza**, v. 34, n. 1, 16 fev. 2022.

ROSA, D. B. DA et al. **Biomassa microbiana e respiração basal de um solo construído e submetido a diferentes cultivos na área de mineração de carvão de candiota/rs**. Rio Grande do Sul. Universidade Federal de Pelotas, 2005.

RUCKS, L. et al. **Propiedades Físicas del Suelo**. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay, 2004.

SANCHO, I. DE L. M. **Recuperación de la calidad de Ultisoles mediterráneos degradados, mediante la aplicación de enmiendas y formas alternativas de uso**. Tesis—Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, 2008.

SANTANA, D. P.; BAHIA FILHO, A. Indicadores de qualidade do solo. **Portal Embrapa**, 1999.

SANTOS, H. G. DOS et al. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília: Embrapa, 2018.

SARDANS, J.; PEÑUELAS, J. Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean Quercus ilex L. forest. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, n. 3, p. 455–461, 2005.

SAVIOZZI, A. et al. Biochemical activities in a degraded soil restored by two amendments: A laboratory study. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, n. 2, p. 96–101, 2002.

SCHAETZL, R.; ANDERSON SHARON. **Soil Genesis and Geomorphology**. Cambridge: Cambridge University, 2005.

SCHINNER, F. et al. **Methods in soil biology**. New York: Springer, 1996.

SCHINNER, F.; VON MERSI, W. Xylanase-, cm-cellulase- and invertase activity in soil: an improved method. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 22, p. 511–515, 1990.

SCHLOTTER, M.; DILLY, O.; MUNCH, J. C. Indicators for evaluating soil quality. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 98, n. 1–3, p. 255–262, 2003.

SCOLARI, D. D. G. **Produção agrícola mundial: o potencial do Brasil. Visão progressista do agronegócio brasileiro**. Brasília, 2006.

SGS. **Bioanálise do solo: Veja como funciona a análise biológica do Solo**. 2021. Disponível em: <<https://www.sgs.com/pt-br/noticias/2021/02/bioanalise-do-solo>>.

- SIGMA ALDRICH. **Ensaio de atividade enzimática**. 2024. Disponível em: <[https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/applications/protein-biology/enzyme-activity-assays?srsId=AfmBOopS3L6eYEEwC52oKSBMjZ9pW5zb6cBp2RJ1YBeDTzIqEk87Iy\\_e](https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/applications/protein-biology/enzyme-activity-assays?srsId=AfmBOopS3L6eYEEwC52oKSBMjZ9pW5zb6cBp2RJ1YBeDTzIqEk87Iy_e)>.
- SILVA, A. C. F. et al. Respiração basal do solo em diferentes sistemas de uso no Semiárido paraibano. **Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 2015.
- SILVA, A. L. P. DA et al. As contribuições dos microrganismos na qualidade do solo na agricultura. **Peer Review**, v. 6, n. 7, p. 96–106, 30 mar. 2024.
- SILVA, E. E. DA; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO<sub>2</sub>). **Portal Embrapa**, 2007.
- SILVA, M. DE O. et al. Indicadores químicos e físicos de qualidade do solo. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 47838–47855, 2020.
- SILVA, M. DE O. et al. Qualidade do solo: indicadores biológicos para um manejo sustentável. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 6853–6875, 2021.
- SINGH, J. S.; GUPTA, V. K. Soil microbial biomass: A key soil driver in management of ecosystem functioning. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 497–500, 2018.
- SKUJIPS, J.; BURNS, R. G. Extracellular enzymes in soil. **Critical Reviews in Microbiology**, maio 1976.
- SOBUCKI, L. et al. Contribution of enzymes to soil quality and the evolution of research in Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 45, 2021.
- SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICA. **Glossary of Soil Science Terms**. 1997. Disponível em: <<https://www.soils.org/publications/soils-glossary/browse/s/>>
- SOJKA, R. E.; UPCHURCH, D. R. Reservations Regarding the Soil Quality Concept. **Soil Science Society of America**, v. 63, n. 5, 1999.
- SPANNER, J. **Healthy soils are the basis for healthy food production**. FAO, 2015.
- SPARLING, G. P. Ratio of Microbial Biomass Carbon to Soil Organic Carbon as a Sensitive Indicator of Changes in Soil Organic Matter. **Australian Journal of Soil Research**, v. 30, p. 195–207, 1992.
- STENBERG, B. Monitoring Soil Quality of Arable Land: Microbiological Indicators. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science**, v. 49, n. 1, p. 1–24, 1999.
- TABATABAI, M. A. Soil Enzymes. v. 9, 1982.
- TABATABAI, M. A. Soil Enzymes. **Soil science society of america**, p. 775–833, 1994.
- TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Arylsulfatase Activity of Soils. **Soil Science Society of America**, v. 34, 1970.
- TANG, X. et al. Soil-atmospheric exchange of CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, and N<sub>2</sub>O in three subtropical forest ecosystems in southern China. **Global Change Biology**, v. 12, n. 3, p. 546–560,

2006.

TEIXEIRA, P. C. et al. **Manual de métodos de análise de solo**. Portal Embrapa. Brasília, 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br>>

TORDIN, C. **Evolução nos estudos do microbioma da soja mostra importância de técnicas moleculares**. Portal Embrapa, 2 jun. 2022. Disponível em: <[https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/71234084/evolucao-nos-estudos-do-microbioma-da-soja-mostra-importancia-de-tecnicas-moleculares?p\\_auth=NhiGNVgU#:~:text=Apenas%20um%20grama%20de%20solo,bilh%C3%B5es%20de%20c%C3%A9lulas%20microbianas%20ativas](https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/71234084/evolucao-nos-estudos-do-microbioma-da-soja-mostra-importancia-de-tecnicas-moleculares?p_auth=NhiGNVgU#:~:text=Apenas%20um%20grama%20de%20solo,bilh%C3%B5es%20de%20c%C3%A9lulas%20microbianas%20ativas)>

TOTÓLA, M. R.; CHAER, G. M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. **Tópicos em ciência do solo**, p. 195–276, 2002.

TSYGANKO, E. et al. Soil degradation in the process of agricultural activities. **BIO Web of Conferences**, 17 abr. 2024.

USDA. **Soil Quality Indicators**. EE. UU. 2015.

USDA. **Soil Survey Manual**. EE. UU. 2017.

VAN ES, H. A New Definition of Soil. **CSA News**, v. 62, n. 10, p. 20–21, out. 2017.

VEENA, V. et al. Isolation and characterization of  $\beta$ -glucosidase producing bacteria from different sources. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 66, p. 14907–14912, 2011.

VEZZANI, F. M.; MIELNICZUK, J. Uma visão sobre qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 4, p. 743–755, 2009.

VOETS, J. P.; MEERSCHMAN, P.; VERSTKAETF, W. Soil Microbiological and Effects of Long-Term Applications Biochemical Atrazine. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 6, n. 3, p. 149–152, 1974.

VONG, P. C. et al. Immobilized-S, microbial biomass-S and soil arylsulfatase activity in the rhizosphere soil of rape and barley as affected by labile substrate C and N additions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 35, n. 12, p. 1651–1661, 2003.

WARDLE, D. A.; GHANI, A. A critique of the microbial metabolic quotient ( $qCO_2$ ) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, n. 12, p. 1601–1610, 1995.

YAN, J. et al. Adsorption, immobilization, and activity of  $\beta$ -glucosidase on different soil colloids. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 348, n. 2, p. 565–570, ago. 2010.

ZALDUEGUI, P. C. **Enzimas**. Madrid: Univesidad Politecnica de Madrid, 1975.

ZATORRE, N. Atributos biológicos do solo como indicadores de qualidade do solo. **Gaia Scientia**, v. 2, p. 9–13, 2008.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO: DETERMINAÇÃO ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA ARILSULFATASE

#### 1. *Amostra de solo para análise*

- Pesar, em triplicata, 1,0 g de solo (seco em estufa a 42 °C por 48 horas) e transferir o conteúdo para tubos de ensaio identificados.
- Adicionar a cada tubo de ensaio 0,25 mL de tolueno; 4 mL de tampão acetato 0,5 mol/L; 1 mL de solução de p-nitrofenil sulfato de potássio (PNS) 0,05 mol/L.
- No banho Maria, incubar os tubos de ensaio por 1 hora a 37 °C.
- Transcorrido o tempo, adicionar a cada tubo de ensaio 1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,5 mol/L e 4 mL de NaOH 0,5 mol/L. Seguidamente, agitar por 5 segundos no Vórtex.
- Centrifugar a solução resultante em tubos Falcon por 5 minutos a 6000 rpm.
- Após a centrifugação, filtrar a suspensão usando papel filtro e novos tubos de ensaio identificados.
- No espectrofotômetro fazer a leitura a 410 nm de cada tubo de ensaio. Caso a leitura do extrato de solo ultrapasse a leitura do padrão 6 (T6, último tubo de ensaio que contém 5 µg p-nitrofenol) da curva de calibração, diluir o extrato da amostra de solo com água.

#### 2. *Prova em branco*

- Pesar, em triplicata, 1,0 g de solo (seco em estufa a 42 °C por 48 horas) e transferir o conteúdo para um tubo de ensaio identificado.
- Adicionar 0,25 mL de tolueno e 4 mL de tampão acetato 0,5 mol/L. Seguidamente, agitar por 5 segundos no Vórtex.
- Incubar o tubo de ensaio por 1 hora a 37 °C.
- Após a incubação, adicionar 1 mL de solução de p-nitrofenil sulfato de potássio (PNS) 0,05 mol/L.
- Em seguida, adicionar 1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,5 mol/L e 4 mL de NaOH 0,5 mol/L. Agitar por 5 segundos no Vórtex.
- Centrifugar a solução resultante em tubo Falcon por 5 minutos a 6000 rpm.
- Após a centrifugação, filtrar a suspensão usando papel filtro e um novo tubo de ensaio identificado.
- No espectrofotômetro fazer a leitura a 410 nm.

#### 3. *Curva de calibração*

- Em seis diferentes tubos de ensaio, respectivamente, pipetar alíquotas de 0, 1, 2, 3, 4 e 5 mL da solução padrão diluída de p-nitrofenol (PNF) e ajustar o volume a 5 mL com água. Seguidamente, agitar por 5 segundos no Vórtex.
- Adicionar 1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,5 mol/L e 4 mL de NaOH 0,5 mol/L. Agitar por 5 segundos no Vórtex.
- Incubar os seis tubos de ensaio por 1 hora a 37 °C.
- No espectrofotômetro fazer a leitura a 410 nm de cada tubo de ensaio.
- Plotar a curva de calibração.

#### 4. *Cálculo para determinação da atividade da enzima do solo*

- O cálculo da atividade da enzima é feito com base na curva de calibração de p-nitrofenol. Executando os cálculos pertinentes para a determinação.

## APÊNDICE B – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO: DETERMINAÇÃO ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE BETAGLICOSIDASE

### 1. *Amostra de solo para análise*

- Pesar, em triplicata, 1,0 g de solo (seco em estufa a 42 °C por 48 horas) e transferir o conteúdo para os tubos de ensaio identificados.
- Adicionar a cada tubo de ensaio 0,25 mL de tolueno; 4 mL de MUB pH 6 e 1 mL de solução de p-nitrofenil β-D-glicosídeo (PNG).
- No banho Maria, incubar os tubos de ensaio por 1 hora a 37 °C.
- Transcorrido o tempo, adicionar 1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,5 mol/L e 4 mL de Tris pH 12 0,1 mol/L. Seguidamente, agitar por 5 segundos no Vórtex.
- Centrifugar a solução resultante em tubos Falcon por 5 minutos a 6000 rpm.
- Após a centrifugação, filtrar a suspensão usando papel filtro e novos tubos de ensaio identificados.
- No espectrofotômetro fazer a leitura a 410 nm de cada tubo de ensaio. Caso a leitura do extrato de solo ultrapasse a leitura do padrão 6 (T6, último tubo de ensaio que contém 5 µg p-nitrofenol) da curva de calibração, diluir o extrato da amostra de solo com Tris pH 10,0.

### 2. *Prova em branco*

- Pesar, em triplicata, 1,0 g de solo (seco em estufa a 42 °C por 48 horas) e transferir o conteúdo para um tubo de ensaio identificado.
- Adicionar 0,25 mL de tolueno e 4 mL de MUB pH 6.
- Incubar os tubos de ensaio por 1 hora a 37 °C..
- Após a incubação, adicionar 1 mL de solução de p-nitrofenil β-D-glicosídeo (PNG).
- Em seguida, adicionar 1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,5 mol/L e 4 mL de Tris pH 12 0,1 mol/L. Agitar por 5 segundos no Vórtex.
- Centrifugar a solução resultante em tubo Falcon por 5 minutos a 6000 rpm.
- Após a centrifugação, filtrar a suspensão usando papel filtro e um novo tubo de ensaio identificado.
- No espectrofotômetro fazer a leitura a 410 nm.

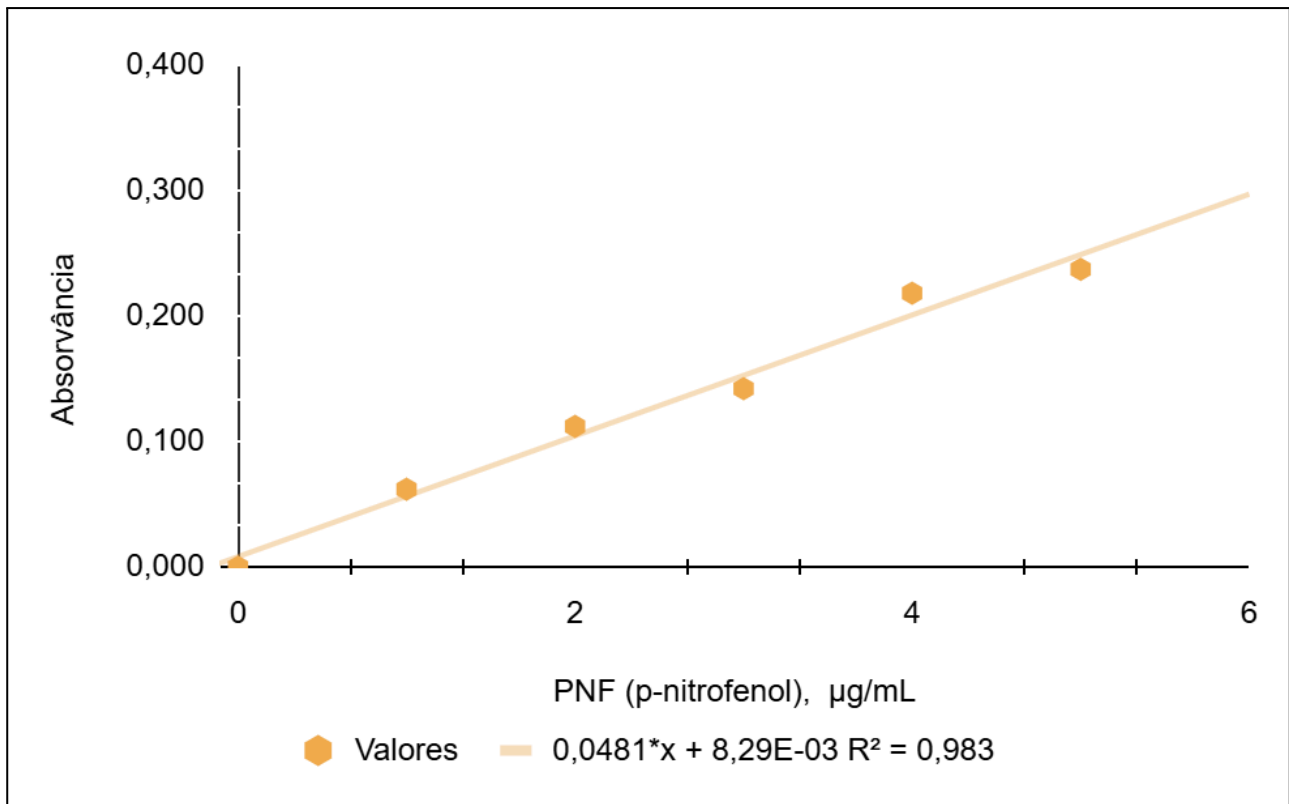
### 3. *Curva de calibração*

- Em seis diferentes tubos de ensaio respectivamente, pipetar alíquotas de 0, 1, 2, 3, 4 e 5 mL da solução padrão diluída de p-nitrofenol (PNF) e ajustar o volume a 5 mL com água. Seguidamente, agitar por 5 segundos no Vórtex.
- Adicionar 1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,5 mol/L e 4 mL de Tris pH 12 0,1 mol/L. Agitar por 5 segundos no Vórtex.
- Incubar os seis tubos de ensaio por 1 hora a 37 °C.
- No espectrofotômetro fazer a leitura a 410 nm de cada tubo de ensaio.
- Plotar a curva de calibração.

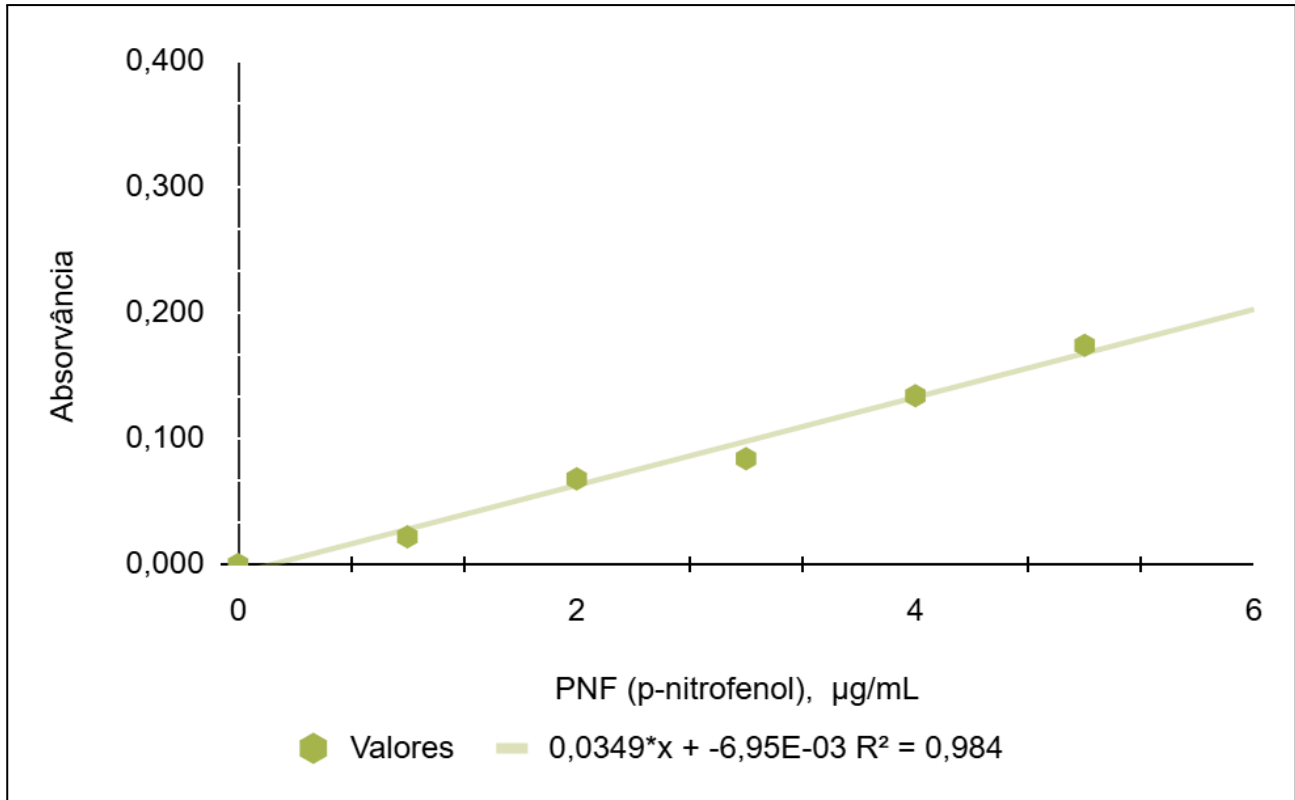
### 4. *Cálculo para determinação da atividade da enzima do solo*

- O cálculo da atividade da enzima é feito com base na curva de calibração de p-nitrofenol. Executando os cálculos pertinentes para a determinação.

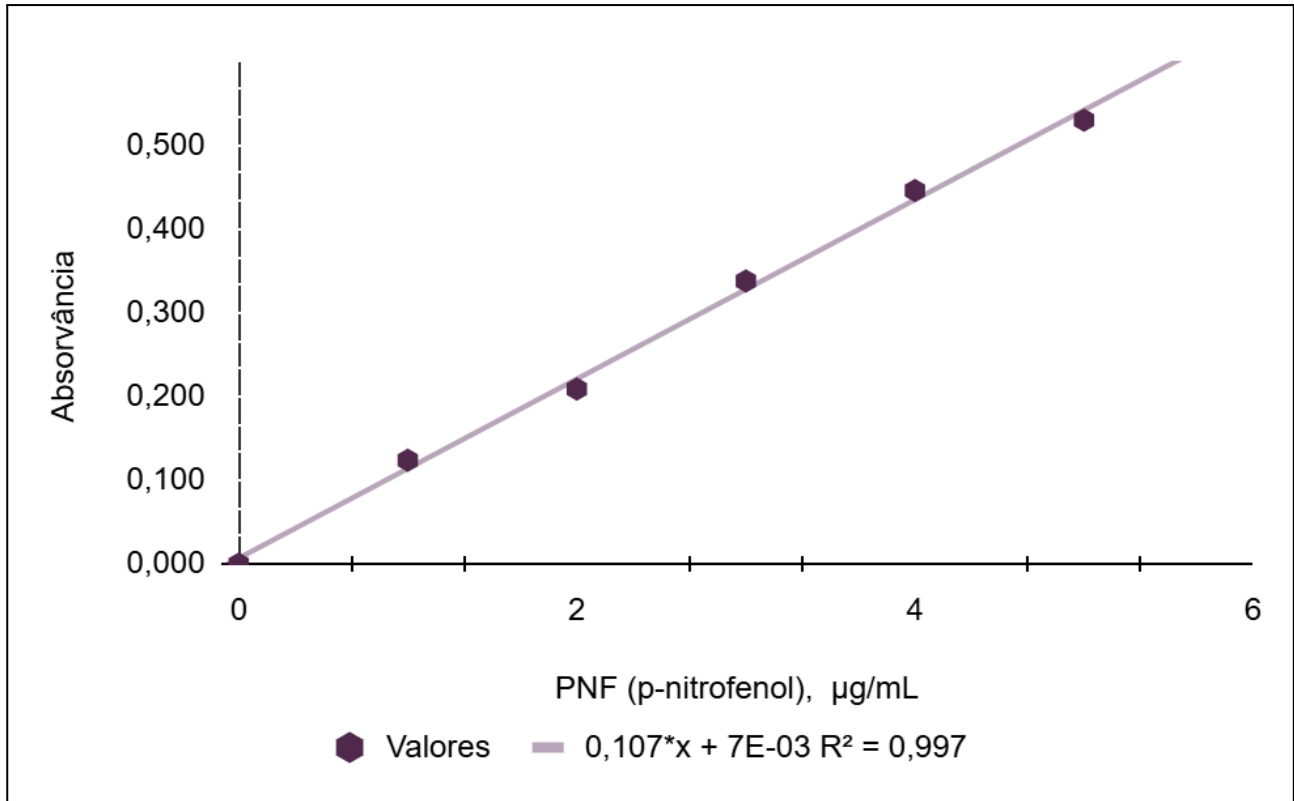
**APÊNDICE C – CURVA DE CALIBRAÇÃO OBTIDA PARA AS ANÁLISES DE ARILSULFATASE NO TEMPO ZERO (T0)**



**APÊNDICE D – CURVA DE CALIBRAÇÃO OBTIDA PARA AS ANÁLISES DE ARILSULFATASE NO TEMPO UM (T1)**



**APÊNDICE E – CURVA DE CALIBRAÇÃO OBTIDA PARA AS ANÁLISES DE BETAGLICOSIDASE NO TEMPO ZERO (T0)**



**APÊNDICE F – CURVA DE CALIBRAÇÃO OBTIDA PARA AS ANÁLISES DE BETAGLICOSIDASE NO TEMPO UM (T1)**

