

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DO CONHECIMENTO DAS CIÊNCIAS EXATAS E ENGENHARIAS
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

CARLOS CÉSAR ORNEL DOS SANTOS JÚNIOR

**AVALIAÇÃO DE CORRELAÇÕES ENTRE ENZIMAS BIOLÓGICAS
β-GLUCOSIDASES E ARILSULFATASES COM PARÂMETROS
FÍSICO-QUÍMICOS DE SOLOS**

CAXIAS DO SUL

2023

CARLOS CÉSAR ORNEL DOS SANTOS JÚNIOR

**AVALIAÇÃO DE CORRELAÇÕES ENTRE ENZIMAS BIOLÓGICAS
β-GLUCOSIDASES E ARILSULFATASES COM PARÂMETROS
FÍSICO-QUÍMICOS DE SOLOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Química da
Universidade Caxias do Sul

Orientador Prof. Dr. Marcelo Giovanela

CAXIAS DO SUL

2023

CARLOS CÉSAR ORNEL DOS SANTOS JÚNIOR

**AVALIAÇÃO DE CORRELAÇÕES ENTRE ENZIMAS BIOLÓGICAS
β-GLUCOSIDASES E ARILSULFATASES COM PARÂMETROS
FÍSICO-QUÍMICOS DE SOLOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Química da
Universidade Caxias do Sul

Orientador Prof. Dr. Marcelo Giovanela

Aprovado em 07/07/2023

Banca Examinadora

Prof. Dr. Wendel Paulo Silvestre
Universidade de Caxias do Sul – UCS

Prof^a. Dr^a. Jadna Catafesta
Universidade de Caxias do Sul – UCS

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Elisete Marcolin e Carlos César, que me auxiliaram na realização do curso e que sempre me incentivaram a estudar. Especialmente a minha mãe que se empenhou a me ajudar na correção do presente trabalho.

A minha namorada Nicole Rodrigues, que foi uma das maiores apoiadoras em minha trajetória acadêmica e também pessoal. Que não mediu esforços para me auxiliar na realização do trabalho, dedicando seu tempo para atingirmos a melhor versão dele.

Aos meus amigos que conheci na durante a faculdade Esther, Poliana e Leonardo, que sempre estiveram dispostos a me ajudar durante o curso.

Agradecimento especial ao professor Dr. Marcelo Giovanela, responsável pela orientação desse trabalho, que doou parte de seu tempo e expertise na área de pesquisa.

Também sou grato ao LQFS, laboratório que realizou as análises do presente trabalho, especificamente à responsável técnica Taciane Fulcher Ribeiro e demais colaboradores.

RESUMO

A qualidade do solo pode ser estimada a partir de indicadores de qualidade. Esses indicadores são características mensuráveis que permitem acompanhar e avaliar as alterações ocorridas em um dado ecossistema. Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar possíveis correlações entre as atividades enzimáticas da arilsulfatase e da β -glicosidase com os parâmetros enxofre, potencial hidrogeniônico (pH), acidez potencial (SMP), cobre e matéria orgânica (MO). Para tanto, realizou-se uma série de análises químicas e biológicas em diferentes amostras de solo que foram coletadas no estado do Rio Grande do Sul, entre 0 e 20 cm de profundidade. Em seguida, o conjunto de dados obtido foi avaliado por meio de testes de correlação de Spearman e Pearson. No geral, os resultados não evidenciaram correlação entre o teor de enxofre e as enzimas, visto que este elemento foi reprovado no teste de normalidade, além de apresentar baixo coeficiente de correlação (r), variando de -0,106 a 0,129. Os níveis de acidez (pH e SMP), além de possuírem baixa correlação com as enzimas em alguns casos, apresentaram elevado p -valor que aumenta a incerteza desse teste. O elemento cobre, por outro lado, apresentou correlação moderada com a enzima β -glicosidase no teste de Spearman, com $r = 0,506$ e aceitável p -valor de 0,044. Além disso, foi observado que há uma correlação positiva entre as atividades enzimáticas e a MO, tanto no teste de Spearman como no de Pearson, sendo que este último evidenciou coeficiente de correlação moderado ($r = 0,562$) entre MO e arilsulfatase e correlação forte ($r = 0,738$) entre MO e β -glicosidase. O teste de Spearman, por sua vez, demonstrou claramente que há uma correlação moderada entre MO e ambas as enzimas. Por fim, esse trabalho evidenciou a importância de se realizar estudos dessa natureza, a fim de difundir e agregar o componente biológico às análises de rotina de solos. É importante salientar ainda que a análise de um número maior de amostras, assim como a alteração da profundidade de coleta, irá certamente contribuir para uma melhor compreensão dessas correlações.

Palavras-chaves: nutrientes, cobre, enxofre, potencial hidrogeniônico, acidez potencial, matéria orgânica, análise biológica, análise nutricional.

ABSTRACT

Soil quality can be estimated from quality indicators. These indicators are measurable characteristics that allow monitoring and evaluating changes in a given ecosystem. In this context, this study aimed to evaluate possible correlations between the enzymatic activities of arylsulfatase and β -glucosidase with the parameters sulfur, hydrogenic potential (pH), potential acidity (SMP), copper and organic matter (OM). Therefore, a series of chemical and biological analyzes were carried out on different soil samples that were collected in the state of Rio Grande do Sul, between 0 and 20 cm in deep. Then, the data set obtained was evaluated using Spearman and Pearson correlation tests. In general, the results did not show a correlation between sulfur content and the enzymes, since this element failed the normality test, in addition to presenting a low correlation coefficient. The acidity levels (pH and SMP), in addition to having a low correlation with the enzymes in some cases, showed a high p-value that increases the uncertainty of this test. The element copper, on the other hand, showed a moderate correlation with the β -glucosidase enzyme in the Spearman test, with $r = 0.506$ and an acceptable p -value of 0.044. Moreover, it was observed that there is a positive correlation between enzymatic activities and OM, both in Spearman and Pearson tests, the latter of which showed a moderate correlation coefficient ($r = 0,562$) between OM and arylsulfatase and a strong correlation ($r = 0,738$) between OM and β -glucosidase. The Spearman test, in turn, clearly demonstrated that there is a moderate correlation between OM and both enzymes. Finally, this work highlighted the importance of carrying out studies of this nature, in order to disseminate and introduce the biological component to routine soil analyses. It is also important to point out that the analysis of a larger number of samples, as well as changing the collection depth, will certainly contribute to a better understanding of these correlations.

Keywords: nutrients, copper, sulfur, hydrogenic potential, potential acidity, organic matter, biological analysis, nutritional analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Identificação das classes Latossolo e Cambissolo.....	14
Figura 2 – Dez classes de solo catalogadas no estado do Rio Grande do Sul, separados pelo relevo.....	15
Figura 3 – Perfil do solo da região de Caxias do Sul (RS).....	16
Figura 4 – Mapa de biomas do Brasil	17
Figura 5 – Divisão das fases do solo	20
Figura 6 – Triângulo textural do solo	21
Figura 7 – Reação da CTC.....	23
Figura 8 – Fórmula estrutural da L-tirosinase com indicação dos fragmentos gerados pela ação da enzima L-tirosinase	26
Figura 9 – Gráfico da cinética de Michaelis-Menten de uma reação genérica.....	27
Figura 10 – Estrutura tridimensional da enzima β -glucosidase.....	30
Figura 11 – Hidrólise do glucosinolato pela enzima β -glucosidase com formação de glucose e aglicona.....	31
Figura 12 – Estrutura tridimensional da enzima arilsulfatase.....	32
Figura 13 – Procedimento experimental para a determinação da atividade enzimática da arilsulfatase	41
Figura 14 – Procedimento experimental para a determinação da atividade enzimática da β -glicosidase.....	43
Figura 15 – Procedimento experimental para a determinação de cobre	45
Figura 16 – Procedimento experimental para a determinação de enxofre	46
Figura 17 – Procedimento experimental para a determinação de MO.....	47
Figura 18 – Procedimento experimental para a determinação de pH	48
Figura 19 – Procedimento experimental para a determinação de SMP	49
Figura 20 – Gráfico de dispersão entre os parâmetros β -glicosidase e MO das amostras de solo analisadas	53
Figura 21 – Gráfico de dispersão entre os parâmetros arilsulfatase e MO das amostras de solo analisadas	56
Figura 22 – Gráfico de dispersão entre os parâmetros β -glicosidase e MO das amostras de solo analisadas	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dimensões das partículas do solo	21
Tabela 2 – Definição do coeficiente de correlação linear	35
Tabela 3 – Interpretação da intensidade dos coeficientes de correlação	38
Tabela 4 – Curva calibração para a determinação da atividade enzimática da arilsulfatase	42
Tabela 5 – Curva calibração para a determinação da atividade enzimática da β -glicosidase	44
Tabela 6 – Resultados das análises químicas e biológicas das amostras de solo desse trabalho	51
Tabela 7 – Resultados do teste de correlação de Spearman entre arilsulfatase e β -glicosidase com os parâmetros químicos do solo	52
Tabela 8 – Resultados do teste de normalidade de Shapiro-Wilk para as enzimas biológicas e os parâmetros químicos do solo	54
Tabela 9 – Resultados do teste de correlação de Pearson entre arilsulfatase e β -glicosidase com os parâmetros químicos do solo	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BioAS	Tecnologia de Bioanálise de Solo
CTC	Capacidade de troca de cátions
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<i>E/S</i>	Enzima-substrato
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<i>k</i>	Constante de velocidade
<i>K_m</i>	Constante de Michaelis-Menten
LD	Limite de Detecção
LQFS	Laboratório de Química e Fertilidade do Solo
MO	Matéria orgânica
MUB	<i>Modified Universal Buffer</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
PNG	<i>p</i> -nitrofenil-β-D-glicopiranosídeo
PNS	<i>p</i> -nitrofenil sulfato
<i>P</i>	Produto
<i>r</i>	Coefficiente de correlação de Pearson e/ou Spearman
ROLAS	Rede Oficial de Laboratórios de Análise de Solo e Tecido Vegetal
SiBCS	Sistema Brasileiro de Classificação de Solo
SMP	Acidez potencial
Teste W	Teste de normalidade de Shapiro-Wilk
<i>V_{max}</i>	Velocidade máxima

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	SOLO.....	13
2.2	BIOMAS BRASILEIROS	16
2.2.1	Cerrado.....	17
2.2.2	Mata Atlântica	18
2.2.3	Pampa	18
2.3	PROPRIEDADES DO SOLO	19
2.3.1	Propriedades físicas.....	20
2.3.2	Propriedades químicas.....	23
2.3.3	Propriedades biológicas	24
2.3.4	Enzimas do solo.....	25
2.3.5	Relação da atividade enzimática e parâmetros físico-químicos.....	28
2.3.6	Enzima β-glucosidase	29
2.3.7	Enzima arilsulfatase e enxofre no solo.....	31
2.3.8	Matéria orgânica.....	32
2.3.9	pH e SMP.....	33
2.3.10	Cobre.....	34
2.4	TRATAMENTO DE DADOS.....	35
2.4.1	Teste de correlação de Pearson	36
2.4.2	Teste de correlação de Spearman.....	37
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
3.1	MATERIAIS	39
3.2	MÉTODOS.....	39
3.2.1	Coleta e preparação das amostras de solo.....	40
3.2.2	BioAS	40
3.2.2.1	Arilsulfatase.....	40
3.2.2.2	β -glicosidase	42
3.2.3	Análises químicas.....	44
3.2.3.1	Cobre	44
3.2.3.2	Enxofre	45
3.2.3.3	Matéria orgânica	46

3.2.3.4	pH	47
3.2.3.5	SMP	48
3.2.4	Tratamento de dados.....	49
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5	CONCLUSÕES	60
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	61
	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

A qualidade do solo é de extrema importância para o desenvolvimento da fauna e flora. Sua saúde influi diretamente no crescimento de plantas e frutos, tornando-se essencial à realização de estudos e análises de solo.

Mediante análises nutricionais em amostras de solo, é possível verificar os diversos elementos que causam influência positiva ou negativa no plantio de uma determinada cultura. Essa análise é relevante uma vez que auxilia agrônomos, produtores e microprodutores rurais a terem melhor desempenho no plantio, mitigando prejuízos. Sendo assim, a qualidade do solo é importante não só ao profissional que labora com a colheita, mas também a todos que se beneficiam dos produtos finais.

Por sua vez, o solo pode ser conceituado como um sistema dinâmico de constante evolução, transformação e desenvolvimento. Sua formação se deve a um conjunto de fatores físicos, químicos e biológicos que degradam rochas em partículas de tamanhos diversos, e que com o passar do tempo sedimentam-se sobre a superfície terrestre.

Atualmente, a qualidade do solo é comumente avaliada por meio de análises químicas e físicas, devido à confiabilidade dos resultados. Entretanto, Mendes *et al.* (2018) ressaltam a importância dos indicadores biológicos. A partir de testes específicos, esses autores comprovaram que duas áreas idênticas, na perspectiva físico-química, possuíam desempenhos distintos na produção e na qualidade de frutos. Todavia, através do método analítico de Tabatabai (1994), constatou-se que eram os indicadores biológicos que estavam afetando a produtividade.

Os parâmetros químicos são responsáveis pela fertilidade do solo e estão relacionados diretamente com a quantidade de nutrientes disponíveis a serem absorvidos pelas plantas, e posteriormente serem reciclados pela biota do solo. Paralelamente, as enzimas biológicas aumentam a velocidade de decomposição das plantas, auxiliando na ciclagem desses nutrientes. Por outro lado, as características físicas do solo, como porosidade, cor, textura, teores de silte, argila e areia, definem o tipo do solo de uma região, que somado a outros fatores ambientais, como a presença de fontes hídricas e clima, estabelecem o tipo de vida vegetal e animal que se desenvolverá na região.

Considerando-se as propriedades que afetam a qualidade do solo torna-se necessária sua análise para melhor acompanhamento. Desta forma, as análises de solo para fins agronômicos são realizadas por laboratórios prestadores de serviço especializados, e que normalmente seguem normas da ISO 17025:2017 e interlaboratoriais da região atendida. As análises

químicas, por sua vez, possuem correlação entre os parâmetros, devido à grande quantidade de bibliografia disponível. Entretanto, a quantificação da atividade enzimática ainda carece de informações, assim como a correlação com os parâmetros químicos. Por consequência, o método analítico biológico não é muito disseminado e procurado por técnicos agrônomos e agricultores.

Visando difundir a importância do controle conjunto desses indicadores, em especial do parâmetro biológico, esse trabalho apresenta a fundamentação teórica concernente às propriedades do solo, bem como o estabelecimento de possíveis correlações entre os parâmetros físico-químicos e biológicos de amostras de solo por meio de ensaios experimentais.

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a existência de possíveis correlações entre parâmetros físico-químicos com a atividade enzimática em amostras de solo, a partir de análises laboratoriais.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) quantificar cinco parâmetros físico-químicos (cobre, enxofre, pH, SMP e MO) e dois parâmetros biológicos (enzimas arilsulfatase e β -glucosidase) em amostras de diferentes tipos de solo que foram coletadas no território do estado do Rio Grande do Sul;
- b) analisar e comparar os resultados obtidos com a literatura, visando estabelecer possíveis correlações entre os parâmetros;
- c) avaliar os resultados obtidos, a fim de interpretar e determinar possíveis relações entre os dados gerados, aplicando métodos estatísticos adequados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SOLO

De acordo com Anderson e Schaetzl (2005), o solo é um grande organismo que se forma e altera-se constantemente por diferentes meios e condições, mas sempre em contínua evolução. Além disso, o solo sustenta diferentes condições de vida, criando um ciclo natural de subsistência entre todas as espécies do planeta Terra. Desta forma, é possível conceituá-lo de diferentes maneiras e propor utilidades distintas. Por exemplo, um agricultor visualizará o solo como um meio de crescimento de plantas, enquanto um engenheiro civil o definirá como um local propício para receber uma construção. Portanto, a área de estudo determinará a melhor conceituação (ANDERSON; SCHAETZL, 2005).

Da mesma forma, o intemperismo, também chamado de meteorização, é uma sequência de processos físicos, químicos e biológicos que afetam diretamente a superfície terrestre. Esse processo é lento e geralmente depende de diversos fatores como clima, relevo e temperatura que desgastam as rochas, fragmentando-as e posteriormente depositando-as sobre a superfície (BRANCO, 2014). Esse material possui propriedades únicas, além de funções importantes como a produção e manutenção de nutrientes, o resguardo de camadas hídricas subterrâneas e o subsídio à vida vegetal e animal da área onde ocorreu o depósito (CETESB, 2022a).

Além disso, o solo possui diferentes características e propriedades, e que são resultantes das diferenças entre os ecossistemas em que o intemperismo ocorre (CETESB, 2022a). Assim, a atuação conjunta de microrganismos associada a efeitos físicos e químicos, formam a MO. Em suma, a fração base do solo possui diferentes tipos de minerais e materiais em diversos estágios de decomposição que formam o próprio ecossistema (ANDERSON; SCHAETZL, 2005).

A percepção de diferentes tipos de solo gerou a necessidade de identificação e catalogação dos solos brasileiros, que iniciou em meados de 1950 com a Comissão de Solo do Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agronômicas (CNEPA), a qual criou os primeiros levantamentos pedológicos do país (SANTOS *et al.*, 2018).

Por sua vez, a primeira classe identificada por estudos realizados no estado de São Paulo foi a Latossolo e suas variações. Nessa pesquisa, as referidas diferenciações possuíam espessura de camada na faixa de 200 - 300 cm de profundidade, medida a partir da superfície. De mesmo modo, foi no sul de Minas Gerais que ocorreram as primeiras identificações da segunda classe, a Cambissolo, que, diferentemente da primeira, possui uma camada mais rasa, atingindo 40 cm

de profundidade (SIBCS, 2018). Essas duas classes de solo encontram-se representadas na Figura 1.

Figura 1 – Identificação das classes Latossolo e Cambissolo



Fonte: Adaptado de Prado (2022)

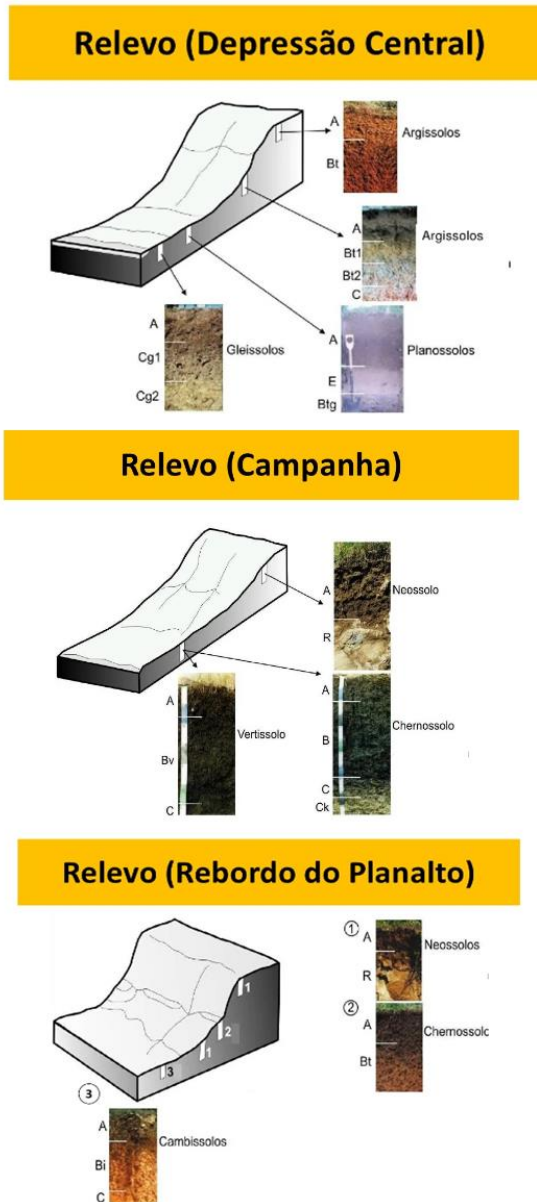
No início da década de 1970, o Sistema Brasileiro de Classificação de Solo (SiBCS) iniciou oficialmente o sistema taxonômico oficial de classificação de solos no Brasil. Coordenado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), o SiBCS catalogou 13 classes de solos presentes no território brasileiro, sendo que, no estado do Rio Grande do Sul existem dez classes. Na Figura 2 estão representadas três imagens relativas ao relevo do estado do Rio Grande do Sul, subdivididas nas dez classes de solo (SANTOS *et al.*, 2018).

No interior do estado, a região da cidade de Caxias do Sul possui relevo classificado como Planalto, sendo que 40 % do solo são horizontes de Neossolos Regolíticos e Litolíticos. Essas classes de solo possuem colorações mais escuras, com baixa espessura, são rasas e formadas principalmente a partir do intemperismo de rochas vulcânicas, conforme exemplificado na Figura 3 (BRASIL, 1973; UFSM, 2021).

Além disso, a região da Serra Gaúcha é caracterizada por possuir baixa fertilidade natural e elevada acidez, necessitando de maior intervenção agrícola. De modo geral, os cultivos predominantes da região baseiam-se na fruticultura e no plantio de hortaliças, representado pelos vinhedos, produção de tomate, cenoura, entre outros, além de ter relevância no plantio de árvores de reflorestamento como eucalipto e *Pinus*. Assim, a deficiência nutricional é

consequência da alta acidez do Neossolo predominante da região, que ocasiona maior concentração de alumínio trocável (UFSM, 2021; BRASIL, 1973).

Figura 2 – Dez classes de solo catalogadas no estado do Rio Grande do Sul, separados pelo relevo



Fonte: Adaptado de Rosa (2010)

Por fim, os diferentes tipos de solos catalogados no Brasil são responsáveis pelas distintas propriedades e funcionalidades específicas de cada região do país. Nesse sentido, as diferentes capacidades do solo variam conforme sua localidade, possuindo sistemas hídricos e relevos próprios que permitem a subsistência de diferentes plantas e animais, gerando biomas que se estendem pelo país (VILELA *et al.*, 2019).

Figura 3 – Perfil do solo da região de Caxias do Sul (RS)



Fonte: Adaptado de UFSM (2021)

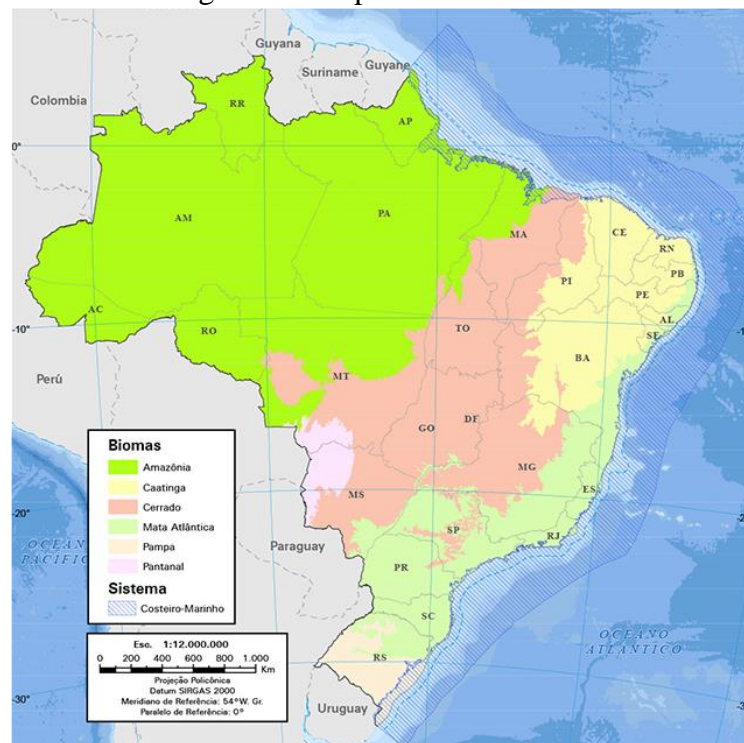
2.2 BIOMAS BRASILEIROS

Considerado um dos países com a maior reserva mundial de recursos naturais, o Brasil possui ampla biodiversidade de fauna e flora, além de 12 bacias hidrográficas espalhadas por seu território. Toda diversidade, com o auxílio da ampla variação climática, permite a presença de sete biomas distintos, sendo um marinho e seis terrestres (VILELA *et al.*, 2019). As áreas de agrupamento vegetal possuem grande valia ao país, sendo base para a agricultura, pecuária, recursos hídricos e florestais, além de gerar segurança alimentar e sustentabilidade (SIBCS, 2018). Devida à grande expansão de áreas cultiváveis, o Brasil tornou-se um dos maiores produtores florestais e agropecuários do mundo, aumentando significativamente o avanço tecnológico para crescimento da produtividade (VILELA *et al.*, 2019).

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2004, mapeou os seis principais biomas terrestres do país, os quais se dividem, respectivamente, por sua ordem de grandeza em Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Pampa e Pantanal. A distribuição desses biomas está representada na Figura 4.

Como pode ser observado, as regiões Sul e Sudeste do país são ocupadas principalmente pelos biomas do Cerrado, Mata Atlântica e Pampa. Esses biomas serão abordados a seguir.

Figura 4 – Mapa de biomas do Brasil



Fonte: IBGE (2021)

2.2.1 Cerrado

A região do Cerrado, considerado o segundo maior bioma do país, inicia no estado do Maranhão e finaliza no norte do estado do Paraná, ocupando mais de 204 milhões de hectares. (SOUSA; LOBATO, 2004). Além disso, segundo Vilela *et al.* (2019), em 2013, contava com mais de 835 mil hectares irrigados, sendo considerado um dos principais reservatórios de água do país, englobando sete bacias hidrográficas: Amazônica, Atlântico, Atlântico Leste, Araguaia/Tocantins, Norte/Nordeste, São Francisco e Paraná/Paraguai (RABELO *et al.*, 2009).

Dentre as classificações encontradas no Cerrado, destacam-se os Latossolos, Quartzarênicos, Argissolos e os Neossolos por compreenderem maior parte da região. Assim, algumas características como permeabilidade, níveis de acidez elevados e alta concentração de óxidos de ferro, que caracterizam a coloração avermelhada, definem a qualidade e a fertilidade do substrato dessa região (SOUSA; LOBATO, 2004).

Durante anos, a região era apenas explorada pelas atividades pecuaristas, visto a dificuldade de plantio, devido à alta acidez do solo. Atualmente, com o avanço das tecnologias agrônomicas nas áreas de mapeamento, análises de solo e irrigação, a região conta com a maior produtividade de grãos, sendo soja, algodão, milho e café os mais cultivados (VILELA *et al.*,

2019). Entretanto, de acordo com o IBGE, no ano de 2021, a criação de gado foi a atividade econômica mais expressiva da região.

2.2.2 Mata Atlântica

Apresentando extrema diversidade ecológica, a Mata Atlântica está presente em 17 estados do Brasil, estendendo-se do Rio Grande do Sul até o estado da Paraíba. Com aproximadamente 111 milhões de hectares, esse bioma está ameaçado de perder características originais da sua vegetação, devido ao crescimento urbano nos últimos anos (VILELA *et al.*, 2019).

Nesse sentido, em 2006, foi sancionada pelo Congresso Nacional a Lei nº 11.428, que visou criar regras de preservação do bioma e proibir a exploração da vegetação primária e secundária, com o fim de conciliar a ocupação humana e a preservação da biodiversidade (BRASIL, 2006).

A Mata Atlântica possui grande variedade de ecossistemas florestais, apresentando vegetação densa e de alto volume, com copas de árvores que podem chegar a 60 m de altura. A grande diversidade de classes de solo presentes no bioma reduzem a variedade de cultura apta para o plantio, permitindo apenas algumas já estabelecidas no local, como arroz, mandioca, frutas e feijão. Além disso, devido ao fato de ser um bioma com alta taxa de irrigação, a Mata Atlântica possui diferentes tipos de flores e plantas adequadas à abundância de água, como orquídeas, cipós e briófitas (IBF, 2020).

2.2.3 Pampa

Localizado apenas no estado do Rio Grande do Sul, o Pampa ocupa 2,07 % do território brasileiro, tendo uma área de 17,8 milhões de hectares. Porém, não é um bioma exclusivo do Brasil, estendendo-se aos territórios da Argentina, Uruguai e Paraguai (VILELA *et al.*, 2019). Sua vegetação nativa é composta principalmente por espécies herbáceas e árvores pouco desenvolvidas, características determinadas pelas condições do clima da região, que possui estações bem definidas durante o ano, permitindo o plantio de culturas sazonais (VILELA *et al.*, 2019). Considerado um bioma de solo fértil, possui principalmente, características da classe Latossolo (e suas variações), como camadas mais rasas e presenças rochosas (SANTOS *et al.*, 2018).

Por outro lado, com o crescimento das atividades agrícolas, como a silvicultura, agricultura e pecuária, a biodiversidade nativa do Pampa tem sido fortemente impactada, uma vez que algumas espécies da fauna e da flora da região foram extintas ou estão se deslocando para outros biomas (HASENACK; CORDEIRO; WEBER, 2002). Segundo a organização MapBiomas (2022), durante o período de 1987 a 2021, o Pampa sofreu muitas modificações, perdendo 3,4 milhões de hectares de vegetação nativa. Atualmente, o bioma mantém apenas 43,2 % da vegetação original, sendo que a maior contribuição para a redução da área nativa foi devida às ações antrópicas.

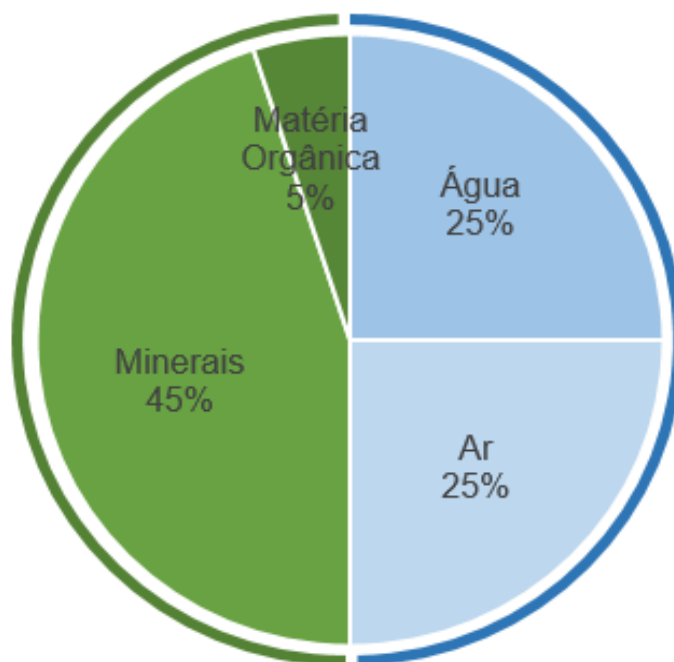
Em termos de produção agropecuária, a região propicia o cultivo de grãos anuais, como soja, milho e cereais, além da forte presença da pecuária, como a criação de gado de corte, leite, ovinos, equinos e a suinocultura (VILELA *et al.*, 2019). Por consequência dos incentivos fiscais, desde 1960, a produção de *Pinus* cresceu muito na região, dominando as espécies na silvicultura do bioma (PENTEADO, 2019).

2.3 PROPRIEDADES DO SOLO

O extenso período de formação do solo gera um grande histórico de informações que ficam armazenados e que podem ser analisados por meio de suas três principais propriedades, sendo elas: (a) propriedades físicas, que são resultados do intemperismo que provoca alterações físicas e químicas da matriz mineral, que levam à formação dos horizontes do solo; (b) propriedades químicas, que auxiliam na visualização nutricional do solo, e assim como os aspectos físicos, definem se determinada área é adequada para receber o plantio de alguma cultura específica; e (c) propriedades biológicas, que retratam sobre os organismos vivos que o habitam, além de serem responsáveis pela ciclagem de elementos químicos (LEPSCH, 2016; SILVA, 2017).

O solo é constituído de três fases diferentes. A primeira delas (sólida) é formada pelo efeito do intemperismo rochoso que é composto também pela MO e de material mineral. A segunda (gasosa), por sua vez, é constituída principalmente pelos gases oriundos dos processos bioquímicos realizados no solo, como a decomposição de materiais orgânicos e a respiração de raízes. A terceira e última (líquida), representada pela solução do solo, possui água e material dissolvido, entre eles, macro e microelementos, elementos não essenciais para o metabolismo e moléculas orgânicas e inorgânicas diversas (SILVA, 2017). As propriedades dessas fases são responsáveis pelas propriedades gerais do solo, influenciando a qualidade e aptidão para usos diversos. Desta forma, a divisão aproximada das fases pode ser observada na Figura 5.

Figura 5 – Divisão das fases do solo



Fonte: Adaptado de SiBCS (2018)

2.3.1 Propriedades físicas

O estudo físico compreende a atuação do intemperismo rochoso, o qual varia conforme o ambiente em que o solo se localiza. Portanto, há diferenças físicas entre solos amostrados de regiões distintas formando sedimentos com partículas de diferentes tamanhos que são depositados sobre a superfície, e a partir de outros fatores, como presença de sistemas hídricos, animais e clima desenvolve-se propriedades características do bioma. Nesse sentido, o estudo baseia-se principalmente na análise de algumas características como densidade, permeabilidade, coloração, textura e porosidade (LEPSCH, 2016).

A densidade indica a estrutura do solo, visto que a quantificação desse parâmetro é realizada pela massa de uma porção de partículas secas por unidade de volume. Assim, esse parâmetro é afetado pelo próprio manejo, erosões, MO e clima (SANTANA *et al.*, 2018). A permeabilidade, por sua vez, possui relevância na determinação da qualidade do solo, visto que define a facilidade de penetração e passagem da água pelo substrato (SAMPAIO *et al.*, 2006). De maneira similar, a textura e a coloração estão diretamente associadas aos coloides do solo e a compostos químicos, como por exemplo a coloração avermelhada pela presença de óxido de ferro, e a presença de alto teor de argila e MO em solos pretos (SIBCS, 2018). Por fim, no Brasil, a caracterização dos tamanhos de partículas do solo segue o Manual de Métodos de

Análise de Solo, publicado por TEIXEIRA *et al.* (2017), cujas dimensões são apresentadas na Tabela 1.

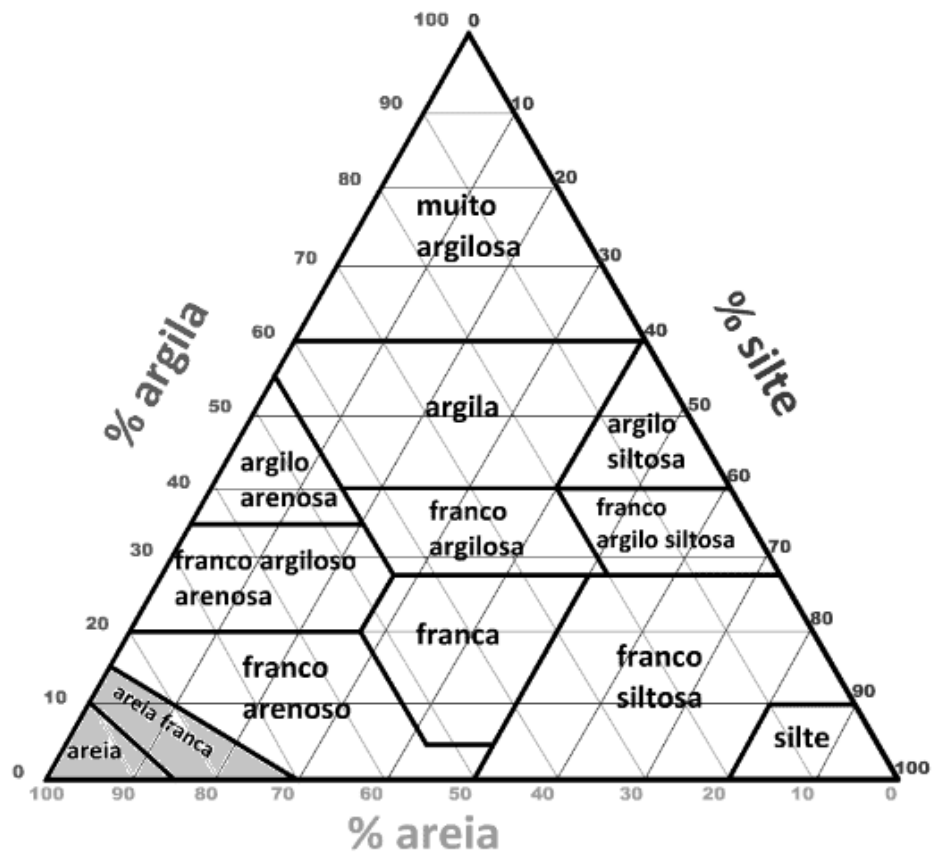
Tabela 1 – Dimensões das partículas do solo

Textura	Tamanho (mm)
Argila	< 0,002
Silte	0,002 – 0,05
Areia	0,05 – 2

Fonte: Teixeira *et al.* (2017)

A partir da análise granulométrica do solo são obtidas as porcentagens de argila, silte e areia presentes em amostras secas. Para a interpretação da análise é necessário utilizar o triângulo textural do solo, apresentado na Figura 6 (LEPSCH, 2016). As porcentagens são traçadas no triângulo, sendo o ponto de interseção a classificação textural.

Figura 6 – Triângulo textural do solo



Fonte: Adaptado de Lepsch (2016)

Solos arenosos ou com partículas de espessura superior a 2 mm são considerados quimicamente inertes. Portanto, essa classe possui baixa capacidade de retenção de nutrientes e tampouco capacidade de retenção de água, o que prejudica sua fertilidade e conseqüentemente o desenvolvimento de espécies vegetais pela baixa possibilidade de troca cátions e ânions (FINKLER *et al.*, 2018). Já a alta gramatura das partículas de solos arenosos permite a passagem da água, reduzindo a capacidade de armazenamento de líquidos e manutenção da umidade do solo. Além disso, como em solos siltosos, que também possuem maior quantidade de poros, as partículas são formadas principalmente por quartzo (SiO_2), que contribui para a espessura de 0,002 a 0,05 mm (COOPER, 2015). Ressalta-se que solos com alto teor de silte possuem aspecto sedoso ao toque, devido à presença de partículas menores e com maior permeabilidade, quando comparado a solos arenosos (FINKLER *et al.*, 2018).

O solo “pesado”, também conhecido como argiloso, é formado por partículas de argila que possuem diâmetro inferior a 0,002 mm, sendo as menores partículas físicas presente no solo. Em decorrência do tamanho, o aspecto argiloso permite grande retenção de água, uma vez que o tamanho reduzido das partículas permite maior acomodação, não havendo espaço suficiente para a passagem de líquidos, formando uma área superficial maior que a de solos arenosos. Por conseqüência, os microporos gerados possuem a função de armazenar água, o que permite a troca de cátions e ânions, propiciando a formação de vida microbiana, vegetal e animal (FINKLER *et al.*, 2018).

Segundo Lepsch (2016), a argila é composta principalmente por minerais no estado coloidal, isto é, um material finamente subdividido sobre um segundo material dispersante. A presença de cátions divalentes, como Ca^{2+} , ou trivalentes, como Al^{3+} , faz com que ocorra a floculação das partículas coloidais, formando grânulos de solo argiloso. Assim, diferentemente da areia, solos argilosos são quimicamente ativos e possuem capacidade de executar trocas iônicas. Além disso, a fertilidade do solo também está diretamente associada aos tipos de minerais que compõem a argila, que são originários das rochas que constitui os horizontes inferiores do solo (LEPSCH, 2016).

As texturas do solo possuem grande influência na aptidão agrônômica, visto que as características de cada classificação estão diretamente relacionadas ao desenvolvimento da fertilidade. Em áreas com características arenosas e sem cobertura vegetal, há maior chance da ocorrência de erosão, modificações estruturais e físicas do solo, diferentemente de regiões siltsas e argilosas, que permitem maior infiltração de água (FINKLER *et al.*, 2018).

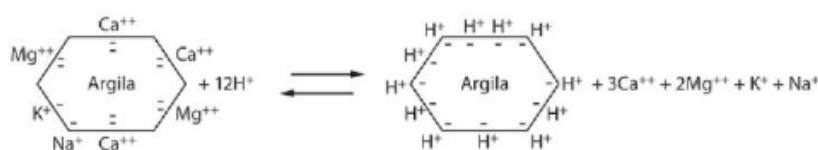
2.3.2 Propriedades químicas

As propriedades químicas são fatores determinantes para o desenvolvimento do solo e permitem o estudo e a identificação de qualidade e fertilidade. Assim, as capacidades químicas estão diretamente associadas a teores de nutrientes, pH, capacidade de trocas iônicas e MO (CETESB, 2022b). A partir da formação inicial do solo, as partículas de quartzo formadas por uma estrutura tetraédrica de silício e oxigênio são capazes de realizar trocas iônicas com água e íons hidrônio, em solução ácida, para formação de partículas de argila permitindo a estabilidade do solo, a possibilidade da ocorrência de reações químicas e a agregação de nutrientes (LEPSCH, 2016).

Nesse contexto, a troca de cargas pode ocorrer de forma natural, a partir de chuvas, vegetações da localidade, dejetos de animais ou intencionalmente, a partir do manejo do solo sob adição de fertilizantes, extratos nutritivos e calcário (LEPSCH, 2016). Portanto, para se desenvolverem, as plantas necessitam de nutrientes para seu crescimento e produção de frutos, visto que a deficiência nutricional afeta diretamente a produtividade, a resistência e a qualidade (FINKLER *et al.*, 2018).

Segundo Lepsch (2016), a capacidade de troca de cátions (CTC) é uma das propriedades mais importantes da química do solo e ocorre pela adsorção de um novo cátion ao entrar em contato com um colóide de argila, substituindo outro íon de carga positiva que está adsorvido na molécula. É importante ressaltar que a troca de íons ocorre de maneira balanceada, isto é, em quantidades químicas equivalentes de cargas. Portanto, a liberação de um íon Mg^{2+} realizada por um colóide terá que receber um ou mais íons equivalentes às duas cargas. A Figura 7 mostra, de forma genérica, a troca de cátions na exposição de uma molécula saturada de cátions básicos a uma solução rica em íons H^+ (semelhante à adição de ácido no solo) (FREITAS *et al.*, 2017).

Figura 7 – Reação da CTC



Fonte: Lepsch (2016)

Como as reações acontecem principalmente por adsorção, isto é, por contato com a superfície do colóide, há três fatores descritos por Lepsch (2016) que influenciam diretamente na retenção de cátions na molécula, sendo eles: concentração relativa do cátion, atividade iônica

e valência do cátion. Assim, em uma partícula saturada, os cátions tendem a deslocar para áreas com menor concentração, devido à lei de ação das massas. Portanto, moléculas saturadas possuem menor fixação de íons, facilitando o processo de troca com outras espécies químicas. De forma similar, o tamanho do íon influencia diretamente a retenção, visto que partículas menores, no caso, íons K^+ , possuem maior atividade iônica (FREITAS *et al.*, 2017; LEPSCH, 2016). Assim, cátions com maior carga, isto é, maior valência, possuem mais facilidade de deslocamento, podendo movimentar íons de menor carga e ocupando seu lugar (LEPSCH, 2016). A ordem crescente de retenção de cátions é descrita abaixo:



Como o íon Al^{3+} possui maior valência entre os demais, terá maior facilidade em deslocar outros íons. A mesma situação ocorre para espécies subsequentes, sendo o íon Na^+ o de menor capacidade de retenção no coloide argiloso.

2.3.3 Propriedades biológicas

O solo abriga uma imensa variedade de organismos de tamanho macroscópico, como insetos, plantas e colônias de fungos. Porém, existem microrganismos que não podem ser observados a olho nu, principalmente bactérias e fungos que por sua vez são responsáveis pela realização da reciclagem de nutrientes.

Estima-se que no solo, existam quantidades iguais de organismos vivos e mortos, gerando a decomposição que complementa a nutrição de plantas e outros animais. De maneira análoga ao intemperismo das rochas, o clima e a localidade interferem diretamente na qualidade e quantidade dos níveis de atividade biológica. Assim, em biomas virgens ou com alta densidade de florestas como o cerrado, a presença de organismos é mais expressiva, quando comparadas a áreas já agricultadas. Isso se deve à própria atividade agrícola que altera as propriedades físicas e também à intensa exposição de defensivos que afeta o desenvolvimento das atividades biológicas, como a recorrência do plantio de uma mesma cultura, necessitando de métodos corretivos e a execução de ciclos de plantio (LEPSCH, 2016; REZENDE; COSTA; DIAS, 2010).

Os microrganismos necessitam de nutrientes para exercerem suas atividades. Essas funções tendem a aumentar com a hidratação do solo, o que propicia o desenvolvimento de bactérias, fungos e demais microrganismos em solos com teor de umidade mais elevado. Da

mesma forma, o nível de acidez também é determinante, considerando que os organismos mais sensíveis, como algumas bactérias, se desenvolvem melhor em pHs mais próximos à neutralidade, diferentemente dos fungos que possuem maior resistência (DIONÍSIO, 2016).

Uma das atividades mais importantes da biota do solo é a ciclagem de elementos químicos como potássio, cálcio, magnésio e silício, ou também na forma de compostos gasosos, como gás carbônico, gás nitrogênio, gás oxigênio, dióxido de enxofre e trióxido de enxofre. Ao final da vida vegetal, os compostos retornam à origem, sendo reciclado pela biota (LEPSCH, 2016). Entretanto, a ciclagem de elementos nutricionais ocorre de maneira extremamente lenta, podendo levar anos para a decomposição química no solo, e necessita da ação de enzimas para aumentar a velocidade das reações. Nesse sentido, a celulose proveniente da degradação das plantas é processada pelas celulasas que hidrolisam o substrato e reinserem as moléculas de carbono ao solo ou na atmosfera (DIONÍSIO, 2016).

Contudo, a MO é maior fonte de carbono e nitrogênio, gerindo uma gama de organismos vivos e em decomposição. Sendo assim, ao ser absorvido pelo solo, o material orgânico é alterado para elementos mais simples e liberado para o meio ambiente como nitrogênio, gás carbônico e monóxido de carbono (LEPSCH, 2016). Nesse sentido, a fração dos dois elementos define alguns comportamentos entre os microrganismos e as plantas do solo como a falta de nitrogênio que reduz o metabolismo vegetal (FINKLER *et al.*, 2018).

Entretanto, o nitrogênio é principalmente fornecido pela atmosfera terrestre, que é composta por 78 % de N₂ (CAIN; BOWMAN; HACKER, 2018). Segundo Vieira (2017), o nitrogênio disponível pelo ar possui dificuldade de ser absorvido pelo solo, devido à alta energia da ligação tripla das moléculas de nitrogênio, o que torna difícil a sua incorporação por métodos químicos sem o auxílio de enzimas específicas (VIEIRA, 2017).

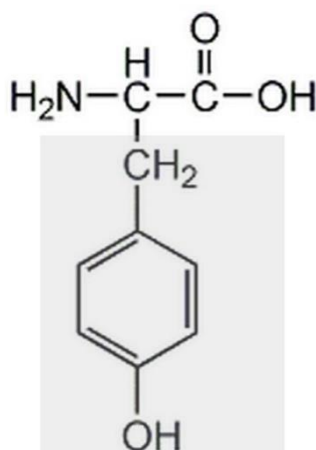
2.3.4 Enzimas do solo

A composição do solo, por envolver moléculas orgânicas estáveis, necessita de energia de ativação externa para a reciclagem de nutrientes. Assim, a requisição de energia de uma reação catalítica é reduzida, devido à quebra de moléculas orgânicas que redireciona os compostos fragmentados (NANMPIERI; CECCANTI; BIANCHI, 1988). Nesse sentido, os catalisadores denominados de enzimas são constituídos por proteínas com grupos funcionais específicos para cada composto, que se encaixam nos substratos e desestabilizam a configuração eletrônica para aumentar a velocidade de hidrólise da molécula. Da mesma forma

que os catalisadores inorgânicos, as enzimas não são consumidas na reação, sendo recicladas após concluírem a quebra das ligações (SKUJINŠ; BURNS, 1976).

Outrossim, as propriedades de uma determinada enzima são estabelecidas por grupos conectados às ligações suscetíveis do substrato, como por exemplo, enzimas com potencial de clivagem proteolítica como a α -quimotripsina e tripsina (TABATABAI, 1994). A tripsina tem potencial para hidrolisar as ligações peptídicas dos grupos L-arginina e/ou L-lisina. Já a enzima α -quimotripsina hidrolisa ligações peptídicas que possuem grupos carbonila da L-tirosina e L-fenilalanina. Assim, a reação catalisada modifica a configuração do composto hidrolisado na ligação suscetível. Na Figura 8, o quadro hachurado identifica a ligação suscetível à hidrólise pela ação da enzima L-tirosinase (TABATABAI; SINGH, 1979).

Figura 8 – Fórmula estrutural da L-tirosinase com indicação dos fragmentos gerados pela ação da enzima L-tirosinase



Fonte: Adaptado de Merck (2021)

A produção de enzimas ocorre principalmente por microrganismos, sendo 50 % proveniente de fungos, 30 % de bactérias e o restante de plantas e animais. Após a síntese, algumas enzimas ficam armazenadas nas células e outras são liberadas para o solo, sendo adsorvidas em moléculas orgânicas e minerais, ou complexadas na MO húmica (TABATABAI, 1994). Entretanto, as enzimas são desestabilizadas em níveis de pH extremos e em temperaturas elevadas causando a perda de eficiência e, em casos extremos, a desnaturação das mesmas. (SKUJINŠ; BURNS, 1976).

Em 1913 Michaelis e Menten elaboraram um modelo matemático que exemplifica a atuação da enzima com o solo. Em seus estudos, eles verificaram que a reação enzimática forma um complexo de enzima e substrato de alta instabilidade, devido à energia de ativação. Na

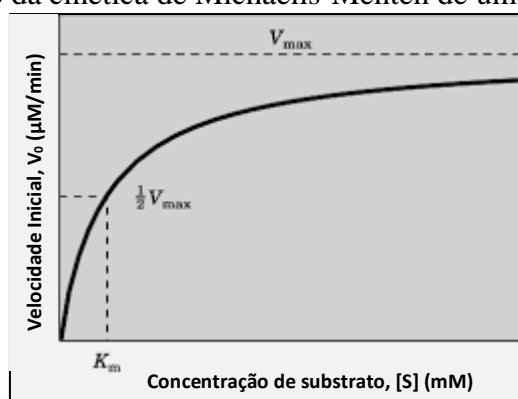
sequência ocorre um rearranjo do substrato hidrolisado, e por fim a recuperação da enzima (MICHAELIS; MENTEN, 1913). Essas reações podem ser observadas na Equação (1):



Na representação acima, o substrato (identificado pela letra S) interage com a enzima (identificada pela letra E), formando o produto da reação de enzima-substrato (E/S) e posteriormente a formação do produto (P), somado à enzima inalterada. Por sua vez, as velocidades da reação são representadas na reação por k_1 (constante de velocidade da reação de formação do complexo E/S), k_2 (constante de velocidade da reação de decomposição do complexo E/S) e k_3 (constante de velocidade da reação de formação do produto). Em geral, a velocidade das reações enzimáticas são constantes e não sofrem influência da concentração do substrato, sendo, portanto, de ordem zero. Em alguns casos, como solos de baixa concentração enzimática, a constante k pode assumir ordem 1, alterando a velocidade da reação (TABATABAI, 1994). A equação que representa a lei da velocidade da reação enzimática pelo modelo de Michaelis-Menten é demonstrada na Equação (2). A Figura 9 ilustra o gráfico da cinética desse modelo para uma reação genérica.

$$V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]} \quad (2)$$

Figura 9 – Gráfico da cinética de Michaelis-Menten de uma reação genérica



Fonte: Alves (2015)

Nessa equação, a constante de Michaelis-Menten (K_m), considerada fundamental para análise química enzimática, representa a concentração do substrato em que se obtém metade da

velocidade máxima (V_{max}) da reação. Desta forma, quanto menor o valor de K_m mais produtiva é a enzima. Portanto, a constante não possui um valor universal, sendo arbitrado para cada enzima (ALVES, 2015). Obtendo-se os valores de V_{max} e K_m , a velocidade da reação é definida e conseqüentemente a taxa de reação enzimática. Além de fatores do meio, como o pH que em níveis específicos desnatura a enzima, a temperatura é outro fator importante que aumenta a velocidade da reação, como consequência do aumento da energia cinética das moléculas. Entretanto, em picos elevados de temperatura, a enzima também pode desnaturar. Com isso, cada enzima possui níveis ideais para atingir o pico de V_{max} da reação, sendo que em altas temperaturas, as estruturas secundárias, terciárias ou quaternárias são modificadas ou destruídas, ocasionando à desnaturação proteica (TABATABAI, 1994).

A fim de determinar a atividade enzimática, Tabatabai e Bremner (1969) e Nanmpieri, Ceccanti e Bianchi (1988) constataram que a concentração de enzimas, inicialmente estudada para níveis de fosfatase, pode ser determinada pela liberação de *p*-nitrofenol, que ocorre pela incubação do solo com solução tamponada (pH = 4,7) de *p*-nitrofenil-fosfato. A utilização do substrato *p*-nitrofenil pode ser utilizado para a determinação da atividade enzimática das principais enzimas do solo, sendo elas: (a) fosfatase (ácida e alcalina), responsável por catalisar a hidrólise de ésteres e anidridos do ácido fosfórico; (b) arilsulfatase, responsável por catalisar a hidrólise de sulfatos inorgânicos; (c) rodanase, responsável por catalisar a formação de tiocianato, formado a partir da reação do tiosulfato e cianeto; (d) desidrogenase, responsável por catalisar a reação de desidrogenação de compostos orgânicos; e (e) β -glucosidase, responsável por catalisar a hidrólise de diferentes glicosídeos.

Para os diferentes tipos de solos brasileiros, a Embrapa Cerrados iniciou um extenso estudo na aplicabilidade da análise biológica, inicialmente do bioma do cerrado. O método BioAs possibilita, a partir de bioindicadores, determinar a saúde do solo, observando-se a análise biológica. Nesse sentido, as enzimas β -glucosidase e arilsulfatase foram selecionadas pela Embrapa Cerrados para compor o estudo da BioAs, visto que são determinantes para estabelecer correlações na produtividade de determinadas áreas, uma vez que ambas possuem maior resistência a alterações químicas e físicas que podem ser causadas pela correção agrícola. (EMBRAPA, 2020).

2.3.5 Relação da atividade enzimática e parâmetros físico-químicos

Visando definir a melhor condição de trabalho das enzimas, estudos foram desenvolvidos para relacioná-las com parâmetros físico-químicos. Mesmo sendo considerado

por Mendes, Reis e Chaer (2021) enzimas resistentes a alterações químicas e físicas no solo, outros autores destacam que as enzimas β -glucosidase e arilsulfatase têm seu equilíbrio alterado, conforme variação de parâmetros físico-químicos, como o teor de MO, pH e temperatura.

A fim de avaliar as condições de atuação das enzimas, Wade *et al.* (2021) acompanharam a variação da atividade enzimática da β -glucosidase em função do pH. Esses autores verificaram que a enzima demonstrou comportamento variado, porém, com tendências de atingir o pico de atividade em solos ácidos, ligeiramente abaixo de pH 6,0. Após esse valor, a atividade cai rapidamente até atingir a inatividade próximo de pH 9,0. De maneira similar ocorre com a enzima arilsulfatase, que possui maior atividade quando exposta a solos com pH próximo a 6,5 (EKENLER; TABATABAI, 2003).

O cobre, por sua vez, é um nutriente pouco corrigido no solo, facilitando a identificação de correlação com a concentração de enzimas. Além disso, sabe-se que a presença de cobre em doses de 150 - 450 mg/kg de solo inibe significativamente a atividade enzimática, sendo a β -glucosidase e a fosfatase ácida mais resistentes, e a arilsulfatase e a fosfatase alcalina as mais sensíveis ao aumento de concentração do nutriente (WYSZKOWSKA; KUCHARSKI; KUCHARSKI, 2012).

A função da enzima arilsulfatase é catalisar a hidrólise de ésteres sulfatos no solo, a fim de disponibilizar enxofre para as plantas, gerando percepção de relação direta com a concentração do nutriente e o aumento da atividade enzimática. De forma similar, Tabatabai e Bremner (1970) afirmam que os efeitos enzimáticos reduzem em amostras de solo coletadas a partir de 40 cm de profundidade, considerando a baixa porcentagem de MO após essa região. Corroborado por Balota *et al.* (2011), a cobertura de material em decomposição aumenta significativamente as atividades enzimáticas no solo, devido ao crescimento da oferta de alimento para os microrganismos.

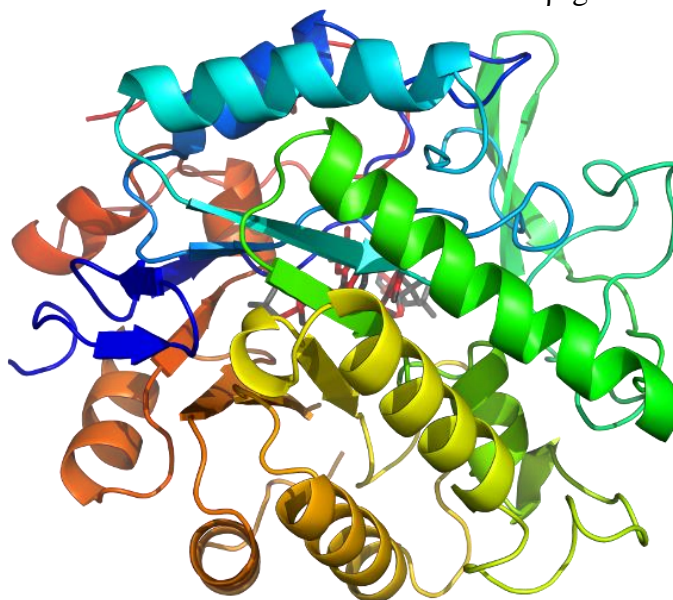
2.3.6 Enzima β -glucosidase

As beta-glucosidases (β -glicosidases) são enzimas que catalisam a hidrólise de ligações β -glicosídicas presentes em glicosídeos de dissacarídeos, oligossacarídeos e glicosídeos conjugados (DAROIT, 2007). Assim, a catálise enzimática é executada principalmente em oligossacarídeos, dissacarídeos e glicosídeos, que são os sacarídeos mais importantes na reação da hidrólise da celulose (DAVIES; HENRISSAT, 1995). Sendo o

carboidrato mais abundante da degradação de plantas, a celulose é assimilada por três principais enzimas: endoglucanases, celobiohidrolases e a β -glucosidase (ZANG *et al.*, 2018).

A β -glucosidase também é um dos indicadores responsáveis pelo ciclo do carbono no solo, reduzindo a velocidade da reação da decomposição da MO realizada por microrganismos (SARRY; GUNATA, 2004). Essa enzima é formada por duas cadeias polipeptídicas que são compostas por mais de 400 aminoácidos constituintes de cada subunidade (CHIDA; SATO, 2012). Logo, os mecanismos de atuação funcionam por sítios ativos, que possuem três subdivisões. O primeiro é responsável pelos reconhecimentos dos monossacarídeos da ligação. O segundo complexa a molécula, permitindo a ligação de açúcares para a formação de polissacarídeos. Por fim, liga-se a enzima ao polissacarídeo formado e libera-se o produto da reação (DAVIES; HENRISSAT, 1995). Nesse sentido, na catálise, a β -glucosidase realiza reação de duplo deslocamento e passa para forma intermediária, revertendo-se após para a forma original ao final da reação, antes que o substrato libere o produto (CHIDA; SATO, 2012). A estrutura tridimensional da enzima β -glucosidase encontra-se representada na Figura 10.

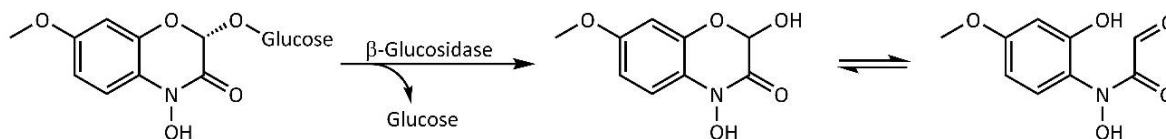
Figura 10 – Estrutura tridimensional da enzima β -glucosidase



Fonte: Jeng, Liu e Wang (2011)

Além disso, essa enzima possui vasta utilidade no meio agrônomo e é essencial para muitos organismos. Além de atuar na decomposição da celulose, possui importância no amadurecimento de frutos, germinação de sementes, emissão de aromas e essência de flores, entre outras funções (VASSÃO *et al.*, 2018). Na Figura 11 é possível observar a hidrólise do substrato glucosinolato, liberando glucose e aglicona, que em seguida sofre rearranjo.

Figura 11 – Hidrólise do glucosinolato pela enzima β -glucosidase com formação de glucose e aglicona



Fonte: Adaptado de Vassão *et al.* (2018)

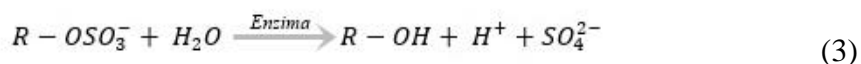
2.3.7 Enzima arilsulfatase e enxofre no solo

O enxofre, de acordo com o Decreto nº 75.583, de 9 de abril de 1975, é um macronutriente secundário do solo, juntamente com cálcio e magnésio (BRASIL, 1975). Apresentado na forma de trióxido de enxofre (SO_3), sulfatos (SO_4^{2-}) e na forma elementar, o enxofre possui funções importantes para a fertilidade do solo e desenvolvimento das plantas, sendo responsável pela imunidade, formação de aminoácidos, atividade enzimática e fotossíntese (VITTI; OTTO; SAVIETO, 2015).

O principal meio de obtenção do enxofre é na forma de sulfato, que provém de fontes naturais, como resíduos de animais, biossólidos e deposição atmosférica, posteriormente absorvido pelas raízes das plantas na forma inorgânica. Entretanto, para o enxofre ser absorvido pelas plantas é necessário que esteja na forma de sulfato, que ocorre a partir de uma reação de mineralização. Para o enxofre elementar, a absorção ocorre pela oxidação do elemento, resultando em SO_4^{2-} (FINKLER *et al.*, 2018). Além da MO, esse elemento possui relação direta com o pH da solução do solo, afetando a adsorção dos grupos sulfatos em coloides argilosos que diminuem com alcalinização do meio, devido à desprotonação das hidroxilas que reduz a quantidade de cargas positivas (JOHNSON; LINDBERG, 1992).

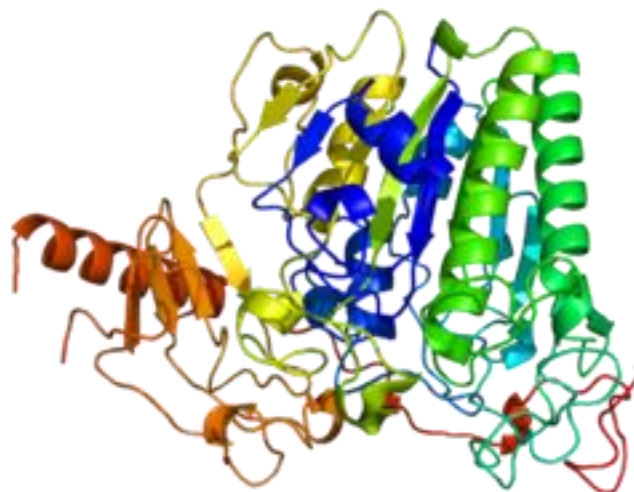
Ainda, o enxofre encontra-se, principalmente, disponível na forma orgânica no solo, armazenado na MO em aminoácidos e moléculas de carboidratos, lipídios, aminoácidos, húmus e fenóis. Esse elemento ainda pode se ligar a moléculas de oxigênio ou cadeias carbônicas, formando aminoácidos e compostos fenólicos, respectivamente (FINKLER *et al.*, 2018). Para absorção de enxofre na forma orgânica, é necessária a mineralização que ocorre através do processo de hidrólise pela catálise de enzimas. Assim, a ciclagem de enxofre no solo é controlada por reações de oxidação e redução ocasionadas por organismos da biota (VITTI; OTTO; SAVIETO, 2015). Conforme descrito por Tabatabai (1994), as sulfatases possuem diferentes classificações quando presentes no solo, que dependem das cadeias carbônicas e dos

ésteres sulfatos. A reação de hidrólise de um composto arilsulfato pode ser expressa por meio da Equação (3):



As reações de oxidação que fomentam o ciclo do enxofre ocorrem principalmente pela enzima arilsulfatase, produzida por microrganismos do solo, como as bactérias da família *Thiobacillus*. A liberação e o funcionamento das enzimas estão diretamente associados ao pH, temperatura e níveis de MO do solo. Porém, em profundidades maiores que 40 cm, a quantidade de material orgânico diminui, reduzindo a atividade enzimática e os teores de enxofre disponível. No que se refere à temperatura, por sua vez, ocorre a inativação da enzima ao se atingir 60 °C (TABATABAI, 1994). A estrutura tridimensional da enzima arilsulfatase encontra-se na Figura 12.

Figura 12 – Estrutura tridimensional da enzima arilsulfatase



Fonte: Biol (2001)

2.3.8 Matéria orgânica

De acordo com Tedesco (1995), a MO possui grande utilidade em métodos de avaliação da fertilidade do solo e pode ser utilizada na relação de disponibilidade de nitrogênio e auxílio para estabelecer critérios de adubação. Composta por materiais de origem vegetal, microbiana e animal em diversos estados de decomposição, a MO possui influência nas propriedades

químicas, físicas e biológicas do solo e indica efeitos da absorção de água, densidade, pH, CTC, absorção de nutrientes, tamponação, entre outros (CUNHA; MENDES; GIONGO, 2015).

Os materiais orgânicos vivos e mortos em diferentes estágios de decomposição são oxidados por microrganismos como bactérias, fungos e enzimas que assimilam e reorganizam as cadeias moleculares, liberando os compostos nutritivos na forma inorgânica e realocando para a massa biológica. Posteriormente, os nutrientes são absorvidos por plantas e continuam a ciclagem natural. A sensibilidade ao manejo e correção do solo permite à MO indicar e auxiliar no ciclo dos nutrientes do solo (CUNHA; MENDES; GIONGO, 2015). Segundo Duxbury, Smith e Doran (1989), cerca de 80 % do fósforo e 60 % do enxofre do solo estão armazenados na massa de MO e sofrem mineralização para executar o processo de ciclagem, nutrindo as plantas. Além de macronutrientes, os micronutrientes também são complexados na MO, necessitando de influência da CTC como na exposição de ácidos orgânicos simples para a liberação de Cu, Zn e Mn (CUNHA; MENDES; GIONGO, 2015).

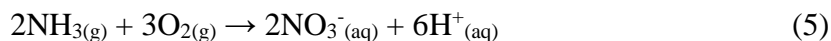
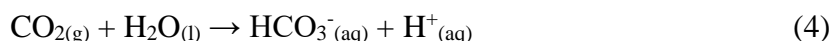
Sendo assim, os nutrientes do solo, no estado orgânico, ficam agregados em grupos funcionais de cadeias carbônicas. A MO é a maior fonte de carbono, sendo liberada na forma de CO₂ e mineralizada por células enzimáticas. A oxidação causada por esses microrganismos gera carbono orgânico que auxilia na síntese de novas enzimas, e no desenvolvimento de bactérias e fungos. Além disso, fatores determinantes para a sobrevivência dos microrganismos como pH, umidade e temperatura, afetam os teores de carbono no solo e sua qualidade nutricional (CUNHA; MENDES; GIONGO, 2015).

2.3.9 pH e SMP

Um dos parâmetros mais relevantes na análise de solo é a quantificação do nível de acidez e alcalinidade (LEPSCH, 2016). Segundo Lepsch (2016), os solos brasileiros são naturalmente ácidos, apresentando valores de pH que variam de 4,5 a 5,5. Pode-se considerar no Brasil a seguinte relação quanto à classificação de acidez: pH < 4,4 - muito alta, pH entre 4,4 e 5,0 - alta, pH 5,1 e 5,5 - média, e pH entre 5,6 e 6,0 - baixa (BRUM *et al.*, 2018).

Solos com níveis ácidos de pH tendem a possuir deficiência nutricional, pois a CTC é baixa, considerando a saturação de íons H⁺. Portanto, os elementos nutricionais como Ca, P e Mg tendem a ter menor concentração por não conseguirem efetuar trocas iônicas. Além disso, os níveis de pH tendem a baixar naturalmente, devido às chuvas ácidas e ao aumento da MO do solo, havendo incremento na concentração de H⁺, a partir do produto da reação da liberação

de gás carbônico e sua dissociação na conversão de amônia em nitrato. Ambas reações estão representadas nas Equações (4) e (5) (LEPSCH, 2016; BRUM *et al.*, 2018):



Sendo assim, o pH ativo é a relação direta da disponibilidade de íons H^+ na solução da biota. Porém, a planta não assimila o mesmo pH, e por isso é possível obter a acidez potencial do solo, relacionando-se a acidez trocável e não trocável. A acidez potencial do solo é obtida utilizando-se uma solução tampão, formulada por Shoemaker, Mclean e Pratt (SMP) que simula o efeito tampão do metabolismo da planta. Atualmente, para atender as propriedades do solo do Rio Grande do Sul, a solução foi reformulada aderindo a sigla “TSM” (WOLF; BEEGLE; HOSKINS, 2008).

A acidez trocável é a relação da quantidade de íons H^+ e de Al^{3+} disponíveis para realizar trocas catiônicas nos sítios das partículas do solo, ocupando o local de ligação dos demais macro e micronutrientes. Já o potencial não trocável (acidez residual) define a fração de acidez no solo que não está disponível para executar trocas iônicas com os cátions, geralmente responsável pela presença de ácidos diluídos na biota (TEIXEIRA *et al.*, 2017; TEDESCO *et al.*, 1995).

2.3.10 Cobre

O cobre é considerado um micronutriente do solo, como definido pelo Decreto nº 75.583 de 9 de abril de 1975, devido ao fato de ser um oligoelemento, cuja demanda para realização das atividades metabólicas dos organismos é baixa. Porém, faz partes de enzimas presentes no solo, regula a atividade mitocondrial, auxilia na imunidade contra pragas e doenças. No entanto, a disponibilidade reduzida do elemento, na ordem de microgramas por quilo de amostra, é resultado de alguns fatores como pH alcalino e a sobreposição por outros elementos de maior mobilidade, como Zn e Fe (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997; WYSZKOWSKA *et al.*, 2014)

O cobre não é encontrado na forma elementar na natureza, normalmente apresenta-se como íons Cu^+ ou Cu^{2+} . Devido a propriedades fungicidas, compostos cúpricos são utilizados contra fungos nas plantas, como por exemplo o CuSO_4 . Porém, o uso demasiado desses

produtos causa o aumento da concentração de cobre no solo, chegando níveis prejudiciais ou tóxicos para as plantas. (MICHEREFF, 2001).

Além do papel importante no desenvolvimento e proteção de plantas, o cobre desempenha função fundamental na atividade enzimática do solo, atuando na estabilização e ativação das enzimas. Ademais, auxilia na oxidação e redução das reações catalisadas sendo um balizador da saúde das enzimas. (SINSABAUGH, 2010; WYSZKOWSKA *et al.*, 2014).

2.4 TRATAMENTO DE DADOS

Os conceitos de correlação estão atrelados à ocorrência de associações estatísticas entre duas variáveis, de forma casual ou não casual. Publicado em 1889, o livro *Natural Inheritance*, do antropólogo Sir Francis Galton, estabeleceu um marco para o campo da estatística e definiu a correlação como: “Dois órgãos são ditos correlacionados quando a variação de um deles é geralmente acompanhada pela variação do outro, e na mesma direção, enquanto a proximidade da relação difere em diferentes pares de órgãos, [...]” (MATTOS; KONRATH; AZAMBUJA, 2017; ALDRICH, 1995).

Para avaliar a existência de correlação entre amostras, pode-se construir um gráfico de dispersão ou de pontos, possibilitando a visualização e definição da direção e sentido. Dessa forma, o resultado apresentado pelo gráfico demonstra o coeficiente que expressa matematicamente o grau de associação entre as duas variáveis. O coeficiente linear pode variar entre +1 e -1, sendo que quanto mais distante de zero, mais linear será a correlação (MATTOS; KONRATH; AZAMBUJA, 2017). A definição pode ser observada na Tabela 2.

Tabela 2 – Definição do coeficiente de correlação linear

Correlação	Condição
Linear positiva	$(0 < r_{xy} < 1)$
Linear negativa	$(-1 < r_{xy} < 0)$
Não linear (linear nula)	$r_{xy} \approx 0$
Sem correlação	$r_{xy} = 0$

Fonte: O autor (2022)

A partir do coeficiente linear é possível estabelecer qual o melhor método de estudo para a manipulação dos dados. Nesse contexto, podem ser citadas a correlação de Pearson e a

correlação de Spearman que, ao serem aplicadas, disponibilizam o coeficiente de correlação (r) e o p -valor.

2.4.1 Teste de correlação de Pearson

O coeficiente de correlação obtido através do teste de Pearson também é conhecido como correlação linear, onde ao ser aplicado mede a força e a direção da relação linear entre as duas variáveis. Sendo a direção avaliada pelo sinal de r , quando negativo demonstra que a correlação é inversamente proporcional e quando positivo a relação de disponibilidade dos parâmetros aumenta ou diminui diretamente. A força, por sua vez, é avaliada quanto mais próximo de +1 ou -1 for r , e menor quanto mais próximo de zero chegar (CHAPMAN, 2017). Esse valor pode ser obtido através da equação de correlação de Pearson, descrita na Equação (6):

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{[\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2][\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2]}} \quad (6)$$

onde,

r = coeficiente de correlação de Pearson;

n = número de observações;

x_i = valores da variável x em uma amostra;

\bar{x} = média aritmética dos valores da variável x ;

y_i = valores da variável y em uma amostra;

\bar{y} = média aritmética dos valores da variável y .

Além de obter r , é necessário verificar a significância estatística do teste realizado. Isto é, calcula-se um teste de hipótese que avalia se a correlação foi obtida por acaso ou não. O p -valor (valor- p) inferior a 0,05 define que a correlação é estaticamente significativa; portanto, é baixa a probabilidade do resultado do r ter sido obtido pelo acaso. Por outro lado, caso p -valor seja superior ao nível de significância (0,05), não é possível confirmar a correlação calculada, já que o resultado de r pode ter ocorrido devido à variabilidade natural dos dados utilizados. Dessa forma, não é aconselhado considerar a correlação obtida (CHAPMAN, 2017).

A fim para viabilizar a utilização da equação de Pearson, é necessário que ambas populações de amostras que serão correlacionadas, cumpram alguns requisitos, devido à sensibilidade desse método. Verifica-se a existência de correlação de linearidade positiva ou negativa, proximidade de resultados sem presença de valores atípicos (*outliers*), medidas em escalas de intervalo e obtenção de distribuição normal entre as duas variáveis (ALDRICH, 1995; CHAPMAN, 2017).

A obtenção de normalidade é realizada a partir de um teste estatístico que define se determinado grupo de dados segue uma distribuição normal ou não. Assemelhando-se ao teste de hipóteses citado, ao aplicar o teste de Shapiro-Wilk (Teste W), normalmente usado para calcular normalidade, também se obtém um *p*-valor que é comparado ao nível de significância de 0,05. Caso o resultado seja superior ou igual ao nível, não há evidência estatística para rejeitar a hipótese nula; portanto, é uma distribuição normal. Se for inferior a 0,05, o grupo de dados não segue uma distribuição normal e não é aconselhável o uso desse parâmetro no teste de correlação de Pearson (SHAPIRO; WILK, 1965; CONNEELY; BOEHNKE, 2007).

2.4.2 Teste de correlação de Spearman

O teste de Spearman, assim como de Pearson, também avalia a existência de correlação entre duas variáveis. Porém, diferentemente do primeiro teste, Spearman não assume uma relação linear entre os dados, avaliando-os de forma monotônica, ou seja, se um parâmetro aumenta, o outro correlacionado diminuirá ou aumentará também (CHAPMAN, 2017).

A correlação de Spearman é normalmente empregada para dados que não atenderam aos requisitos de Pearson, visto que não há limitações de uso de variáveis com distribuição não normal e valores discrepantes (*outliers*). O modo de cálculo de Spearman permite organizar os valores de cada variável atribuindo colocações em ordem crescente, dividindo-os por ranque, e dessa forma não importa a variação dos resultados (MATTOS; KONRATH; AZAMBUJA, 2017). A equação de Spearman pode ser observada na Equação (7):

$$r = 1 - \frac{6 \sum_{i=1}^n d^2}{n(n^2-1)} \quad (7)$$

onde,

r = coeficiente de correlação de postos de Spearman;

n = número de observações;

d = diferença entre os dois ranques de cada observação.

A interpretação do resultado de correlação é idêntica ao de Pearson, isto é, quanto mais próximo o valor de correlação r estiver de +1 ou -1, mais forte será a correlação. A correlação é considerada fraca, caso o valor seja mais próximo de zero. As faixas de correlação que definem a intensidade da correlação de Spearman e de Pearson utilizadas nesse trabalho está representada na Tabela 3.

Tabela 3 – Interpretação da intensidade dos coeficientes de correlação

Valor de r (+ ou -)	Interpretação
0,00 a 0,19	Correlação muito fraca
0,20 a 0,39	Correlação fraca
0,40 a 0,69	Correlação moderada
0,70 a 0,89	Correlação forte
0,90 a 1,00	Correlação muito forte

Fonte: O autor (2022)

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta seção discrimina os materiais e métodos que foram utilizados durante a execução desse projeto.

Para realização do trabalho, analisaram-se cinco parâmetros químicos (cobre, pH, SMP, MO e enxofre) e dois parâmetros biológicos (arilsulfatase e β -glicosidase). Assim, para melhor representatividade estatística, foram separadas 19 amostras diferentes de clientes do laboratório para cada parâmetro químico. As amostras foram escolhidas em função dos resultados, isto é, contemplando concentrações altas, médias e baixas de todos parâmetros químicos avaliados.

3.1 MATERIAIS

As amostras de solo utilizadas para realização do projeto foram fornecidas pelo Laboratório de Química e Fertilidade do Solo (LQFS) da Universidade de Caxias do Sul, conforme disponibilidade do acervo de amostras e demanda de clientes. O laboratório realizou os ensaios para determinação dos parâmetros químicos e as atividades enzimáticas arilsulfatase e β -glicosidase, como preconiza os procedimentos adotados pelo mesmo. Os parâmetros químicos já haviam sido previamente analisados conforme a contratação do cliente, porém só foram utilizados dados dos parâmetros cobre, pH, SMP, MO e enxofre. As diretrizes das normas técnicas da ABNT pertinentes e interlaboratoriais da área agrônômica foram seguidas a rigor.

3.2 MÉTODOS

Os parâmetros químicos pH, SMP, cobre, enxofre e MO foram analisados conforme documentos internos do laboratório. Os métodos são baseados no manual de análise requerido pela Rede Oficial de Laboratórios de Análise de Solo e de Tecidos Vegetais dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (ROLAS-RS/SC). O método seguido pelo ROLAS teve como base o “Manual de Análise de Solos, Plantas e Outros Materiais” (TEDESCO, 1995). Por sua vez, para a análise biológica de arilsulfatase e β -glicosidase foi utilizado o método proposto por Tabatabai (1994). A descrição dos métodos será abordada nos tópicos a seguir.

Cabe ressaltar que para garantir a qualidade dos resultados, o laboratório, na época de realização das análises, seguia todas as normas estabelecidas pela NBR ISO 17025:17 e possuía selo de confiabilidade de análises de interlaboratoriais. Dessa forma, os ensaios foram

realizados em monoplacatas, visto que a garantia dos resultados está assegurada pela utilização de materiais de referência certificados e calibração de todos os equipamentos utilizados.

3.2.1 Coleta e preparação das amostras de solo

A amostragem para a análise biológica, descrita por Tabatabai (1994), ocorre pela coleta do solo entre 0-10 cm. Contudo, realizou-se conforme descrito por Tedesco (1995) entre 0-20 cm de profundidade, visto que se utilizou a mesma amostra destinada à análise química, para realização do ensaio biológico. Posteriormente, as amostras coletadas foram homogeneizadas em um recipiente, formando a amostra principal que foi transferida para um saco plástico limpo fornecido pelo laboratório. O processo foi repetido para diferentes áreas, culturas ou glebas. Ressalta-se que os processos de amostragem e armazenamento foram realizados pelo cliente do laboratório.

Ao receber a amostra do solo, o laboratório foi responsável por descaracterizar, transferindo o conteúdo do saco plástico (± 500 g) para caixas de papel que receberam um protocolo de identificação. Na sequência, a secagem da amostra foi realizada em estufa de circulação forçada de ar a 40-50 °C por 48 h. Ao término desse procedimento, o material seco passou por uma triagem, visando à retirada de pedras, sujeira e demais contaminantes, seguindo para moagem em moinho de martelos, passando o material moído por uma peneira de 2 mm.

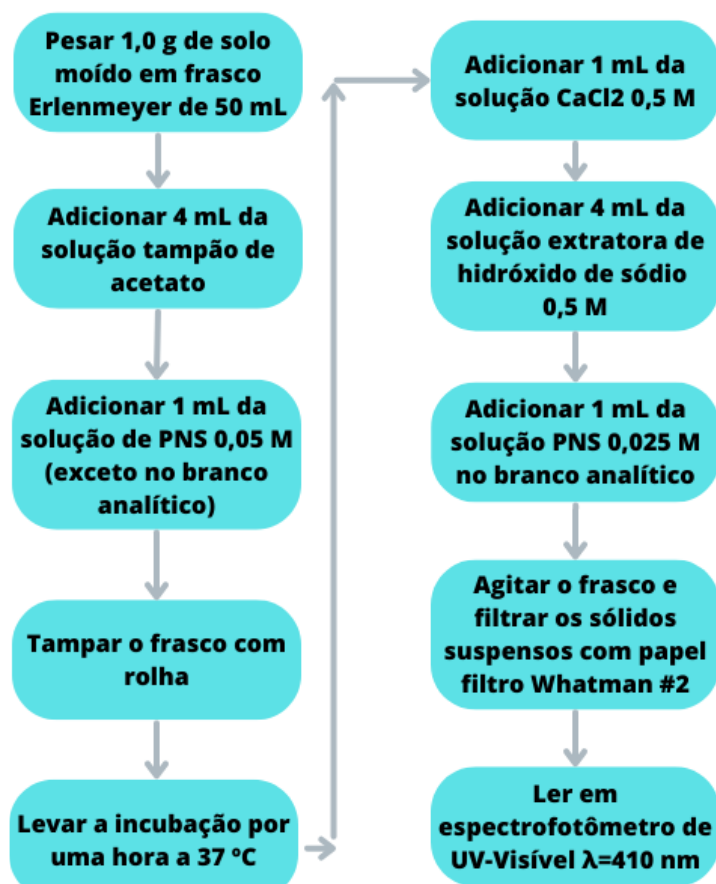
3.2.2 BioAS

Para os ensaios biológicos de arilsulfatase e β -glicosidase, frascos Erlenmeyer de 50 mL foram inicialmente higienizados com água e detergente, sendo em seguida imersos por 30 min em solução a 10 % (v/v) de ácido clorídrico. Por fim, foram enxaguados com água corrente e água destilada. Os ensaios foram realizados separadamente para cada enzima.

3.2.2.1 Arilsulfatase

O procedimento experimental que foi utilizado na determinação da atividade enzimática da arilsulfatase encontra-se esquematizado no fluxograma da Figura 13.

Figura 13 – Procedimento experimental para a determinação da atividade enzimática da arilsulfatase



Fonte: O autor (2022)

As soluções necessárias para essa determinação foram preparadas de acordo com o protocolo descrito abaixo:

1. **Solução tampão de acetato 0,5 M:** dissolver 68,0 g de acetato de sódio tri-hidratado em 700,0 mL de água destilada, adicionar 1,7 mL de ácido acético glacial e avolumar em um balão de 1,0 L com água destilada;
2. **Solução *p*-nitrofenil sulfato 0,05 M (PNS):** dissolver 0,614 g de *p*-nitrofenil sulfato (PNS) em 40,0 mL da solução de acetato 0,5 M e avolumar com água destilada em um balão de 50,0 mL;
3. **Solução de cloreto de cálcio 0,5 M:** dissolver 73,5 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em 500,0 mL de água destilada e avolumar em um balão de 1,0 L;
4. **Solução extratora de hidróxido de sódio 0,5 M:** dissolver 20,0 g de NaOH em 500,0 mL de água destilada e avolumar em um balão de 1,0 L;
5. **Solução padrão estoque 1,0 g/L:** dissolver 0,1 g de padrão de *p*-nitrofenol em 50,0 mL de água destilada e avolumar em balão de 100,0 mL;

6. **Solução padrão de trabalho 0,05 g/L:** extrair 5,0 mL da solução padrão estoque e avolumar em um balão de 100,0 mL com água destilada.

A curva de calibração foi construída a partir da solução padrão de trabalho, utilizando-se as quantidades indicadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Curva calibração para a determinação da atividade enzimática da arilsulfatase

Solução de <i>p</i>-nitrofenol (mL)	Água destilada (mL)	CaCl₂ 0,5 M (mL)	NaOH 0,5 M (mL)	Concentração (µg de <i>p</i>-nitrofenol)
0,0	5,0	1,0	4,0	0,000
0,5	4,5	1,0	4,0	0,025
1,0	4,0	1,0	4,0	0,050
2,0	3,0	1,0	4,0	0,100
3,0	2,0	1,0	4,0	0,150
5,0	0,0	1,0	4,0	0,250

Fonte: O autor (2022)

A concentração da atividade enzimática é calculada a partir da regressão linear da curva “*leitura de absorvância vs. µg de p-nitrofenol*”, aplicando a lei de Lambert-Beer. Os valores de absorvância das amostras são aplicados diretamente na equação da reta, não necessitando multiplicar por fator de diluição. A concentração final é obtida em µg de *p*-nitrofenol/g de solo.

3.2.2.2 β-glicosidase

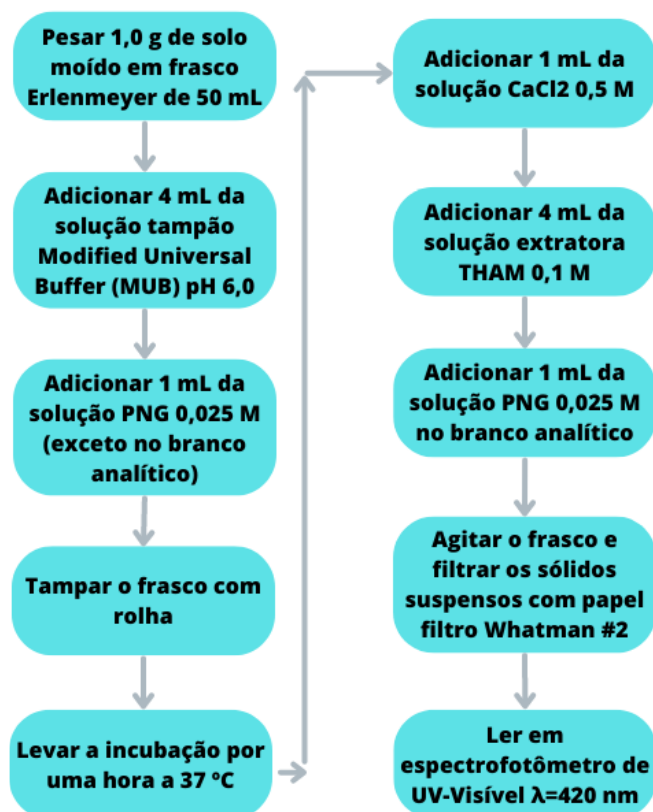
O procedimento experimental que foi utilizado na determinação da atividade enzimática da β-glicosidase encontra-se esquematizado no fluxograma da Figura 14.

As soluções necessárias para essa determinação foram preparadas de acordo com o protocolo descrito abaixo:

1. **Solução MUB:** pesar 12,1 g de tris-(hidroxidometil)aminometano), 11,6 g de ácido maleico, 14,0 g de ácido cítrico e 6,3 g de ácido bórico. Dissolver os reagentes em 400,0 mL de água destilada, adicionar 488,0 mL de NaOH 1 M e avolumar em um balão de 1,0 L com água destilada;
2. **Solução tampão MUB pH 6,0:** dissolver 200,0 mL da solução MUB (Modified Universal Buffer) em 500,0 mL de água destilada e ajustar o pH para 6,0, utilizando solução de HCl 10 % (v/v). Por fim, avolumar em balão de 1,0 L com água destilada;

3. **Solução *p*-nitrofenil 0,05 M (PNG):** dissolver 0,614 g de *p*-nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo (PNG) em 40,0 mL da solução MUB pH 6,0 e avolumar um balão de 50,0 mL com a mesma solução;
4. **Solução de cloreto de cálcio 0,5 M:** dissolver 73,5 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em 500,0 mL de água destilada e avolumar em um balão de 1,0 L;
5. **Solução extratora de hidróxido de sódio 0,5 M (THAM):** dissolver 12,2 g de tris(hidroxidometil)aminometano em 800,0 mL de água destilada, ajustar o pH para 12,0 com NaOH 0,5 M e avolumar em um balão de 1,0 L com água destilada;
6. **Solução padrão estoque 1,0 g/L:** dissolver 0,1 g de padrão de *p*-nitrofenol em 50,0 mL de água destilada e avolumar em balão de 100,0 mL;
7. **Solução padrão de trabalho 0,5 g/L:** extrair 5,0 mL da solução padrão estoque e avolumar em um balão de 100,0 mL com água destilada.

Figura 14 – Procedimento experimental para a determinação da atividade enzimática da β -glicosidase



Fonte: O autor (2022)

A curva de calibração foi construída a partir da solução padrão de trabalho, utilizando-se as quantidades indicadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Curva calibração para a determinação da atividade enzimática da β -glicosidase

Solução de <i>p</i>-nitrofenol (mL)	Água destilada (mL)	CaCl₂ 0,5 M (mL)	THAM 0,5 M (mL)	Concentração (µg de <i>p</i>-nitrofenol)
0,0	5,0	1,0	4,0	0,000
0,5	4,5	1,0	4,0	0,025
1,0	4,0	1,0	4,0	0,050
2,0	3,0	1,0	4,0	0,100
3,0	2,0	1,0	4,0	0,150
5,0	0,0	1,0	4,0	0,250

Fonte: O autor (2022)

A concentração da atividade enzimática é calculada a partir regressão linear da curva “*leitura de absorvância vs. µg de p-nitrofenol*”, aplicando a lei de Lambert-Beer. Os valores de absorvância das amostras são aplicados diretamente na equação da reta, não necessitando multiplicar por fator de diluição. A concentração final é obtida em µg de *p*-nitrofenol/g de solo

3.2.3 Análises químicas

Os ensaios químicos foram realizados de acordo com os métodos estabelecidos por Tedesco (1995). O procedimento de porcionamento da amostra foi realizado por um instrumento volumétrico calibrado em forma de cachimbo, que é definido pelo volume de amostra necessário conforme cada procedimento experimental. Além disso, diferentes técnicas instrumentais foram igualmente utilizadas, dentre elas a espectrofotometria UV-visível, a espectrometria de absorção atômica com chama e a potenciometria. Esses procedimentos estão descritos a seguir.

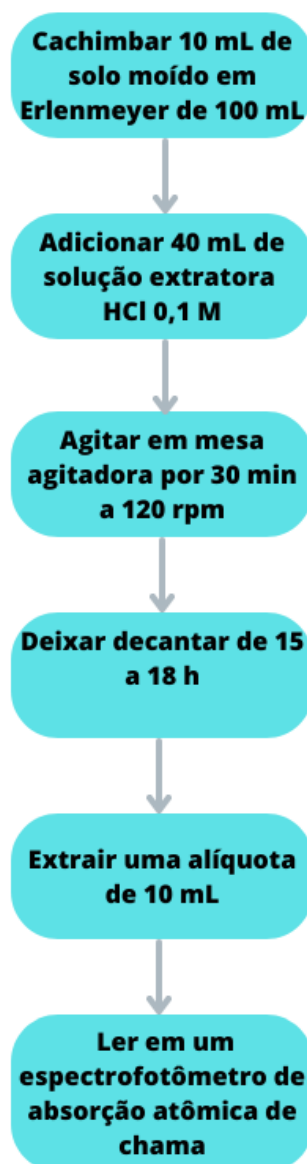
3.2.3.1 Cobre

O procedimento experimental que foi utilizado na determinação de cobre encontra-se esquematizado no fluxograma da Figura 15.

A solução necessária para essa determinação foi preparada de acordo com o protocolo descrito abaixo:

1. **Solução extratora HCl 0,1 M:** diluir 41,65 mL de HCl (P.A) em um balão de 5,0 L, avolumando com água destilada.

Figura 15 – Procedimento experimental para a determinação de cobre



Fonte: O autor (2022)

3.2.3.2 Enxofre

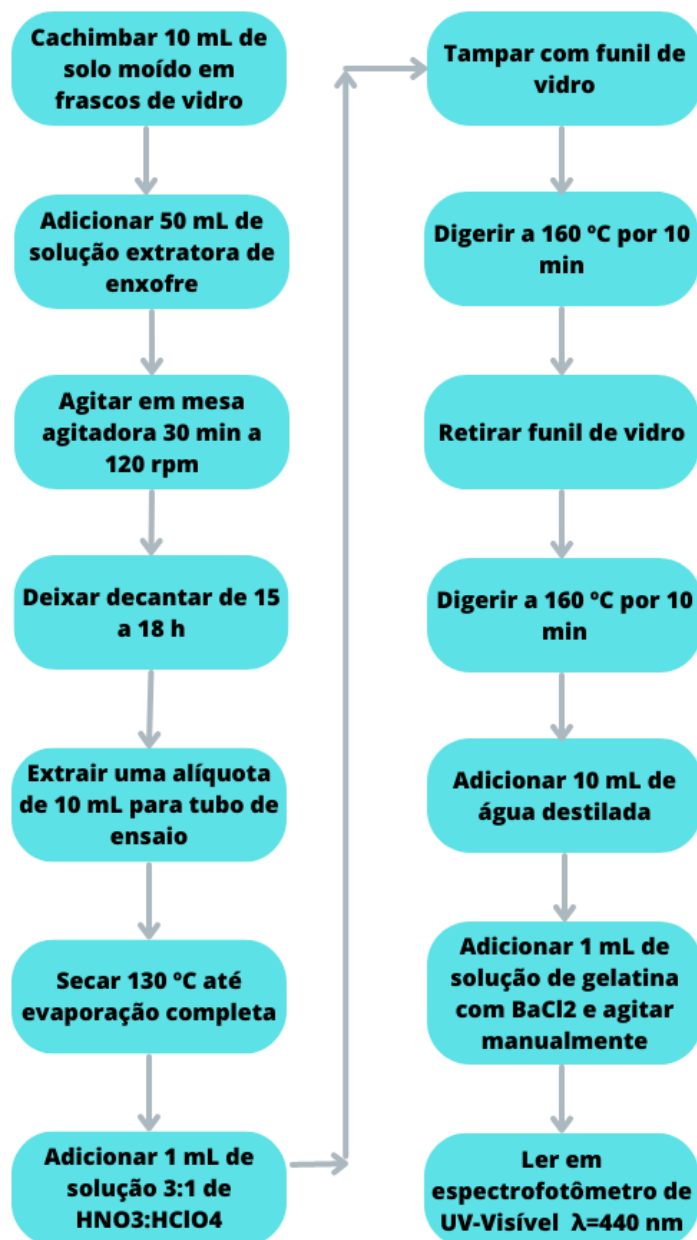
O procedimento experimental que foi utilizado na determinação de enxofre encontra-se esquematizado no fluxograma da Figura 16.

As soluções necessárias para essa determinação foram preparadas de acordo com o protocolo descrito abaixo:

1. **Solução extratora de enxofre:** dissolver 2,02 g de $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em água destilada, ajustar o pH para 3,0 com HCl e avolumar em balão de 2,0 L;

2. **Solução de gelatina 0,3 % m/v com cloreto de bário 1,0 % m/v:** dissolver 0,6 g de gelatina em 200,0 mL de água destilada aquecida, após resfriar de 16 a 18 h. Adicionar 2,0 g de BaCl₂.

Figura 16 – Procedimento experimental para a determinação de enxofre



Fonte: O autor (2022)

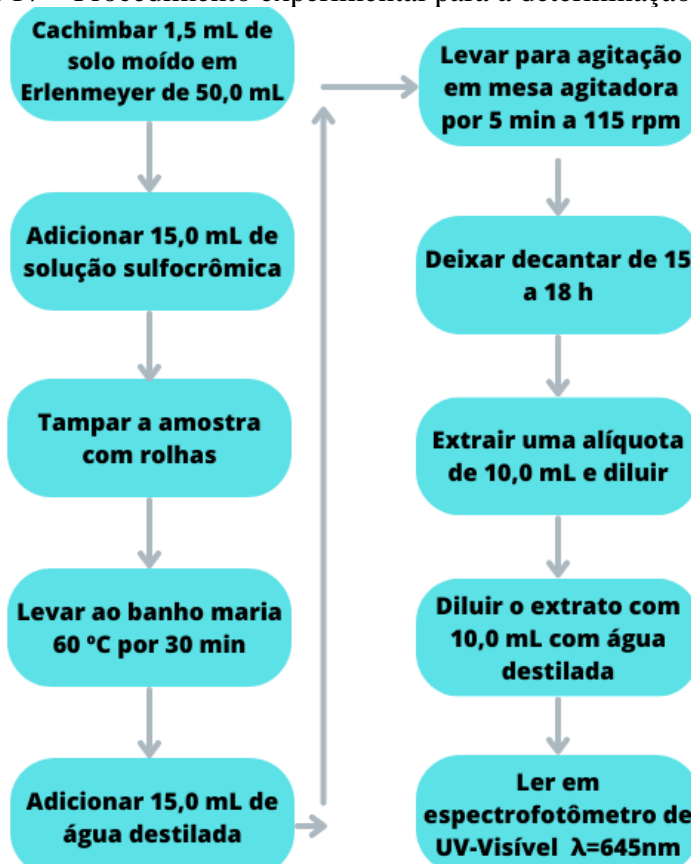
3.2.3.3 Matéria orgânica

O procedimento experimental que foi utilizado na determinação de MO encontra-se esquematizado no fluxograma da Figura 17.

A solução necessária para essa determinação foi preparada de acordo com o protocolo descrito abaixo:

1. **Solução sulfocrômica:** dissolver 298,0 g de dicromato de sódio em 1,00 L de água destilada, adicionar 556,0 mL de H₂SO₄. Avolumar em um balão de 2,0 L com água destilada.

Figura 17 – Procedimento experimental para a determinação de MO



Fonte: O autor (2022)

3.2.3.4 pH

O procedimento experimental que foi utilizado na determinação de pH encontra-se esquematizado no fluxograma da Figura 18.

Figura 18 – Procedimento experimental para a determinação de pH



Fonte: O autor (2022)

3.2.3.5 SMP

O procedimento experimental que foi utilizado na determinação de SMP encontra-se esquematizado no fluxograma da Figura 19.

A solução necessária para essa determinação foi preparada de acordo com o protocolo descrito abaixo:

Solução TSM: dissolver 53,0 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em 300,0 mL de água destilada, adicionar 1,83 g de $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 3,23 g de ácido N-morfolino etanossulfônico monohidratado (MES), 0,59 g de imidazol ($\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$) e 2,5 mL de trietanolamina ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_3$). Avolumar em um balão de 500 mL com água destilada.

Figura 19 – Procedimento experimental para a determinação de SMP



Fonte: O autor (2022)

3.2.4 Tratamento de dados

A avaliação dos resultados obtidos, assim como construção dos gráficos de dispersão entre as variáveis, foi realizada com o auxílio do software Microsoft Excel. Para o estudo de viabilidade de correlações entre os parâmetros, utilizou-se o software SigmaPlot das versões 14.5 e 15.0.

Os testes de Pearson e Spearman foram aplicados para avaliar a existência e grau de correlação entre os parâmetros. Ambos testes foram considerados, visto que cada tentativa de correlação atendia ou não atendia os critérios de utilização de cada método. Além disso, para atender o critério de Pearson, foi utilizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk para avaliar a normalidade dos resultados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir do conjunto de todas as análises químicas e biológicas realizadas em amostras de solo, encontram-se sumarizados na Tabela 6.

Considerando-se as faixas agronômicas fornecidas aos laboratórios participantes do ROLAS, é possível identificar algumas tendências. Em relação à acidez do solo, tanto o pH como a SMP ficaram dentro da faixa agronômica que varia de 4,0 até 8,5 para ambos os parâmetros. Entretanto, apenas as amostras 15 e 16 apresentaram valores maiores ou iguais a pH 7,0, fato que ocorreu pela baixa disponibilidade de amostras com pH alcalino, e que é justificado, uma vez que os solos do estado do Rio Grande do Sul são predominantemente ácidos. Da mesma forma, a região de Bom Princípio e Monte Belo do Sul, municípios em que foram coletadas as amostras 15 e 16, também apresentam solos ácidos, divergindo dos resultados mais alcalinos encontrados (UFSM, 2021). Provavelmente, por se tratar de solos utilizados para cultivo, é possível que as correções nutricionais realizadas (como a calagem alcalina, tenham aumentado o pH dessas amostras (FEPAGRO, 2012).

Em relação ao cobre, o intervalo apresentado pelo interlaboratorial varia de 0,1 a 40 mg/dm³. Para esse parâmetro, apenas as amostras 12 (185,8 mg/dm³) e 16 (199,3 mg/dm³) apresentaram os resultados acima do limite superior. Isso pode estar atrelado também a aplicação de fungicidas agrícolas no solo. De acordo com Silva *et al.* (2014), a contaminação de cobre está cada vez mais comum no meio agrícola, o que pode prejudicar o desenvolvimento das plantas.

De forma similar ao cobre, também pode haver excesso de enxofre pela adição de sulfato de cobre, fungicida amplamente utilizado na agricultura e que pode contaminar o solo quando utilizado em excesso (SOUZA, 2018). Assim, isso pode estar relacionado às análises de enxofre, que apresentarem três amostras (9, 16 e 19) que extrapolaram o intervalo agronômico e que varia de 1 a 30 mg/dm³.

Para a MO, os resultados encontrados apresentam grande variabilidade, sendo que todos ficaram dentro da faixa do intervalo agronômico (de 5 a 70 g/dm³). É importante salientar que as amostras foram escolhidas de acordo com a disponibilidade de material no estoque do laboratório. Desta forma, a amostra 10 não possui resultados para enxofre e cobre, devido ao fato de não ter sido solicitado pelo cliente no momento da contratação do serviço. Além disso, a mesma foi escolhida para compor o conjunto de amostras por possuir maior teor de MO e alta acidez.

Tabela 6 – Resultados das análises químicas e biológicas das amostras de solo desse trabalho

Identificação	Arilsulfatase ($\mu\text{g/g h}$)	β-glicosidase ($\mu\text{g/g h}$)	Enxofre (mg/dm^3)	MO (g/dm^3)	pH	SMP	Cobre (mg/dm^3)	Município
Amostra 01	237,9	135,1	13,7	26	6,4	6,5	5,5	Bento Gonçalves
Amostra 02	241,0	76,2	4,2	41	6,0	6,1	4,3	São Francisco de Paula
Amostra 03	247,7	82,7	9,9	44	5,5	5,6	3,9	São Francisco de Paula
Amostra 04	209,3	107,3	5,0	45	6,3	6,3	40,0	Ipê
Amostra 05	247,7	78,1	6,4	50	4,7	4,5	16,0	Caxias do Sul
Amostra 06	44,8	14,9	4,4	10	5,2	6,3	0,6	São Sebastião do Caí
Amostra 07	186,3	131,3	9,6	53	5,9	6,0	9,2	Vacaria
Amostra 08	140,0	38,9	6,9	35	4,5	4,2	2,3	Caxias do Sul
Amostra 09	14,2	61,6	113,5	22	4,3	5,0	26,0	Coronel Pilar
Amostra 10	247,7	186,8	-	70	4,9	4,5	-	Jaquirana
Amostra 11	184,2	118,9	16,8	37	4,5	4,3	16,3	Tupandi
Amostra 12	236,0	76,0	20,5	21	6,1	6,0	185,8	Caxias do Sul
Amostra 13	247,7	130,8	23,8	33	6,6	6,2	4,8	São Francisco de Paula
Amostra 14	76,5	8,9	27,7	5	5,7	6,2	3,3	São Marcos
Amostra 15	151,6	37,1	9,7	28	7,6	7,2	4,1	Bom Princípio
Amostra 16	159,2	90,8	65,2	35	7,1	6,9	199,3	Monte Belo do Sul
Amostra 17	191,0	73,3	8,4	25	5,4	5,7	13,2	Montauri
Amostra 18	247,7	95,3	6,0	46	6,1	5,8	22,7	Vacaria
Amostra 19	247,7	98,5	36,8	36	6,3	6,3	34,8	Bento Gonçalves

Fonte: O autor (2023)

A fim de atender a faixa agronômica, as amostras citadas que superaram o limite dos parâmetros do enxofre e cobre foram excluídas dos testes de correlação e normalidade aplicados no decorrer do trabalho. A faixa agronômica auxilia na identificação do intervalo médio das concentrações dos nutrientes analisados no estado do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, que também determina os níveis de suficiência do nutriente, caso estejam dentro da faixa apresentada, ou de toxicidade se ultrapassarem o limite de concentração (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO, 2016).

Visando avaliar melhor eventuais correlações entre as enzimas arilsulfatase e β -glicosidase e os parâmetros físico-químicos examinados, utilizou-se inicialmente o teste de correlação de Spearman, cujos resultados são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados do teste de correlação de Spearman entre arilsulfatase e β -glicosidase com os parâmetros químicos do solo

Arilsulfatase	Enxofre	MO	pH	SMP	Cobre
r	-0,034	0,609	0,247	-0,121	0,319
p-valor	0,893	0,006	0,301	0,615	0,220
nº de amostras	15	19	19	19	16
β-glicosidase	Enxofre	MO	pH	SMP	Cobre
r	0,129	0,646	0,240	-0,031	0,506
p-valor	0,639	0,002	0,316	0,894	0,044
nº de amostras	15	19	19	19	16

p-valor < 0,05

Fonte: O autor (2023)

Como pode ser constatado, os resultados mostraram que a MO apresentou uma correlação significativa moderada com as duas enzimas biológicas, apresentando um coeficiente de correlação (r) de 0,609 com a arilsulfatase e 0,646 com a β -glicosidase, como indica os intervalos de interpretação dos coeficientes de correlação na Tabela 3. Esse parâmetro químico também resultou em p -valores iguais a 0,006 e 0,002, respectivamente. Nos testes de correlação, o p -valor indica a significância estatística da correlação; portanto, ao ser obtido um p -valor menor que 0,05, há poucas chances de a correlação observada ter ocorrido por acaso.

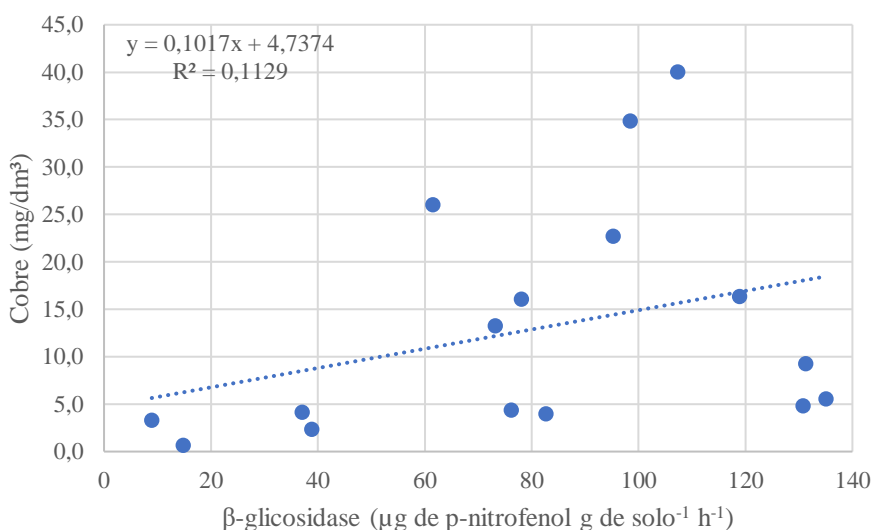
Para os parâmetros pH e SMP, os testes de correlação foram similares entre as enzimas, resultando em p -valores muito superiores a 0,05 e valores de r próximos a zero o que indica que não há correlação entre essas duas variáveis e as enzimas analisadas. Ressalta-se que por

mais que haja uma diferença de r de 0,090 entre a correlação de SMP com a enzima arilsulfatase e a β -glicosidase, ambos valores de r (-0,121 e -0,031) são considerados correlações fracas, como apresentado na Tabela 3. Esses resultados podem ter ocorrido, uma vez que o nível de pH e SMP podem ter causado desnaturação das enzimas, efeito binário não quantificável.

O enxofre foi o parâmetro químico que apresentou a menor correlação com a arilsulfatase e a β -glicosidase, resultando em valores baixos de r e altos para p -valor; portanto, considera-se que para as amostras analisadas não há correlação pelo teste de Spearman.

O cobre, por sua vez, apresentou correlação moderada quando testado com a enzima β -glicosidase, visto possuir r de 0,506 e p -valor igual a 0,044 ($< 0,05$). A tendência entre os dois parâmetros (β -glicosidase e cobre) pode ser observada no gráfico da Figura 20. Por outro lado, quando correlacionado com a arilsulfatase, o micronutriente apresenta uma correlação fraca ($r = 0,319$) e um p -valor superior a 0,05 (0,220). Por essa razão, considera-se que não há correlação entre o micronutriente e enzima arilsulfatase.

Figura 20 – Gráfico de dispersão entre os parâmetros β -glicosidase e MO das amostras de solo analisadas



Fonte: O autor (2023)

Nesse gráfico é possível observar que a linha de tendência é crescente, ou seja, à medida que o valor de uma variável aumenta, o valor da outra também aumenta consistentemente. Destaca-se ainda que a distribuição dos pontos é bastante aleatória, isto é, por mais que o teste de Spearman tenha apresentado uma correlação moderada, a relação é monotônica, existindo

uma tendência entre as variáveis, com pontos distribuídos de maneira não contínua, que também pode estar relacionado ao limitado número de amostras (*n*) analisado.

A tendência observada entre a enzima β -glicosidase e o cobre pode ter relação com a disponibilidade de MO. De acordo com Arend (2010), o micronutriente é normalmente repostado no solo pela adição de material orgânico, a partir do efeito de quelação dos íons cobre com a MO. Analisando a Tabela 6, é possível verificar algumas amostras que possuem correlação positiva com a enzima e que tem alto teor de cobre e de MO, como a 4, 12, 18 e 19.

A fim de ampliar o estudo das correlações entre os parâmetros químicos com as enzimas biológicas, os resultados das análises passaram também pelo teste de correlação de Pearson, visto que esse possui maior sensibilidade para identificação de relações lineares entre variáveis. Dessa forma, iniciou-se, como pré-requisito para Pearson, a testagem da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk para constatar se os dados seguem uma distribuição normal (Tabela 8).

Tabela 8 – Resultados do teste de normalidade de Shapiro-Wilk para as enzimas biológicas e os parâmetros químicos do solo

Parâmetro	<i>p</i>-valor	Resultado
Arilsulfatase	0,002	Reprovado
β -glicosidase	0,850	Aprovado
Enxofre	0,023	Reprovado
MO	0,974	Aprovado
pH	0,754	Aprovado
SMP	0,079	Aprovado
Cobre	0,014	Reprovado

Fonte: O autor (2023)

Devido ao teste de normalidade ter sido reprovado para os parâmetros arilsulfatase, enxofre e cobre, não foi possível correlacionar todas as variáveis de estudo por meio do teste de correlação de Pearson. Existe a possibilidade de assimetria em função da média dos resultados de enxofre e de cobre ter comprometido o teste de normalidade dos mesmos, considerando que há um intervalo menor de resultados mais baixos do que resultados maiores, quando comparados à média. O cobre, por exemplo, apresenta média igual a 12,9 mg/dm³; entretanto, a faixa de resultados maiores que a média é maior, variando de 13,2 a 40 mg/dm³, enquanto o intervalo dos resultados menores varia apenas de 0,6 a 9,2 mg/dm³.

A arilsulfatase, por sua vez, também apresentou distribuição não normal para as amostras. A presença de repetidos valores iguais a 247,67 μ g de *p*-nitrofenol g de solo⁻¹ h⁻¹

elevou a média do conjunto de amostras, aumentando assim a presença de *outliers* negativos (valores baixos discrepantes dos demais), e aumentando a assimetria dos resultados.

As amostras que apresentaram 247,67 µg de p-nitrofenol g de solo⁻¹ h⁻¹ apresentaram tal resultado possivelmente por atingirem o limite de detecção (LD) do equipamento. Ao atingir o LD do método, não é possível afirmar o real resultado do parâmetro da amostra analisada, pois o valor quantificado pode ser igual ou maior ao obtido.

Diante disso, optou-se pela exclusão das amostras 3, 5, 10, 13, 18 e 19, considerando não ser possível precisar seus resultados. A remoção desses dados pode ter limitado a amplitude dos resultados de correlação, mas foi uma medida importante para garantir a qualidade e a validade dos resultados obtidos. Após a exclusão, a arilsulfatase foi aprovada no teste de normalidade, resultando em um *p*-valor igual a 0,130. Vale ressaltar que não houve a necessidade de repetir o teste de correlação de Spearman após a exclusão das amostras citadas, visto que, o teste de Spearman relaciona as variáveis por ordem de grandeza. Dessa forma, as amostras que apresentaram o valor máximo atingido já estão sendo correlacionadas na posição correta do teste.

A partir dos resultados obtidos no teste de normalidade, foi possível prosseguir a aplicação da correlação de Pearson nos parâmetros, com exceção de enxofre e cobre que apresentaram distribuição não normal. Os resultados obtidos a partir da correlação de Pearson encontram-se na Tabela 9.

Tabela 9 – Resultados do teste de correlação de Pearson entre arilsulfatase e β-glicosidase com os parâmetros químicos do solo

Arilsulfatase	Enxofre	MO	pH	SMP	Cobre
r	-0,106	0,562	0,424	0,166	0,057
<i>p</i> -valor	0,756	0,046	0,149	0,588	0,868
nº de amostras	11	13	13	13	11
β-glicosidase	Enxofre	MO	pH	SMP	Cobre
r	0,042	0,738	0,042	-0,178	0,336
<i>p</i> -valor	0,880	0,0003	0,864	0,466	0,203
nº de amostras	15	19	19	19	16

p-valor < 0,05

Fonte: O autor (2023)

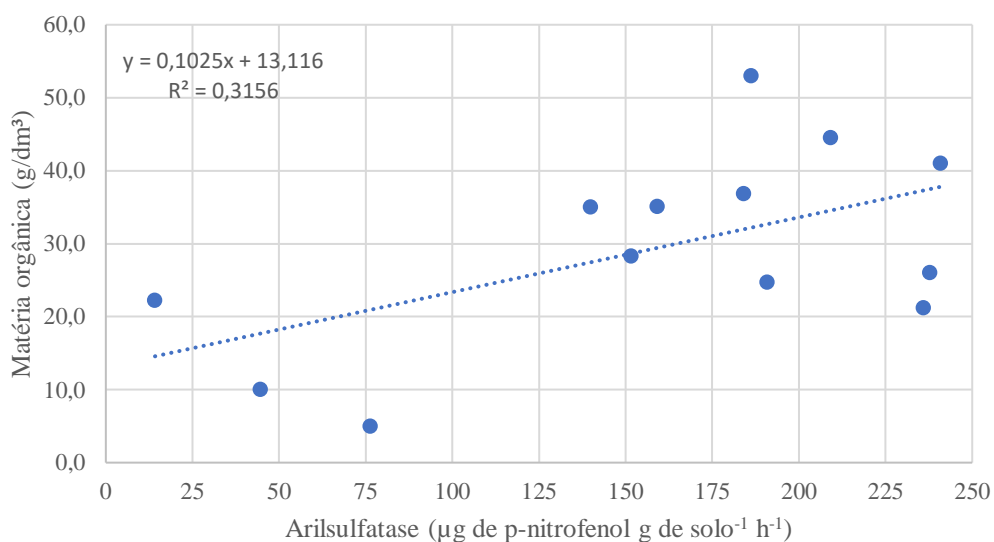
Considerando os resultados, nota-se que apenas a correlação entre MO e enzimas apresentaram *p*-valor menores que 0,05. Isso sugere que essas correlações são estatisticamente significativas e não são resultados ocasionais. Portanto, avaliando o coeficiente de correlação obtido entre esses parâmetros, conclui-se que a correlação entre a β -glicosidase e a MO é considerada forte ($r = 0,738$), e entre a enzima arilsulfatase e MO moderada ($r = 0,562$), uma vez que quanto maior o teor de MO no solo, maior será a disponibilidade de substrato orgânico a serem decompostos (CUNHA; MENDES; GIONGO, 2015).

Mesmo apresentando reprovação no teste de normalidade, que os invalidam para o teste de Pearson, o enxofre e o cobre tiveram resultado insatisfatório na correlação. Ambos elementos possuem coeficiente de correlação próximo a zero; portanto, classificados como muito fraco ou nulo, além de *p*-valor muito superior ao limite 0,05. Assim não satisfizeram a correlação.

De maneira similar ao teste de Spearman, o pH e a SMP resultaram em um alto *p*-valor e baixo coeficiente de correlação, indicando que não há correlação significativa entre os parâmetros de acidez com as enzimas do solo. Destaca-se que o pH, quando correlacionado com arilsulfatase, resultou em um coeficiente moderado e igual a 0,424; no entanto, é alta a probabilidade desse resultado ter sido obtido pelo acaso em função do *p*-valor elevado, superando o limite de 0,05.

A fim de visualizar as tendências de correlação entre a MO e as duas enzimas, relacionou-se os parâmetros nos gráficos das Figuras 21 e 22.

Figura 21 – Gráfico de dispersão entre os parâmetros arilsulfatase e MO das amostras de solo analisadas

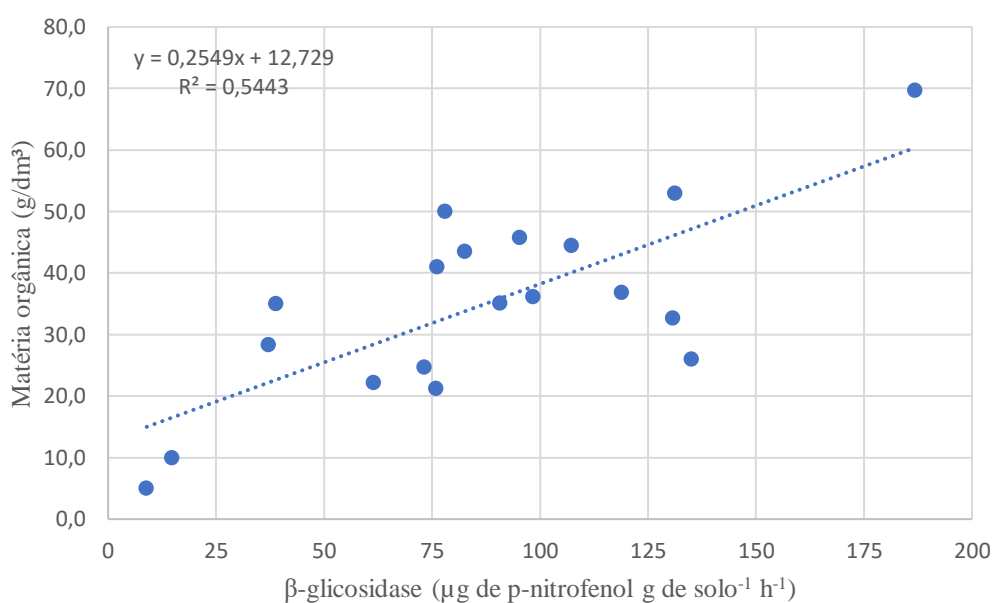


Fonte: O autor (2023)

Os resultados obtidos da análise gráfica da Figura 21 indicam uma tendência positiva entre a arilsulfatase e o parâmetro MO. Embora a relação entre as variáveis não seja linear, é possível observar um aumento da concentração de MO quando a concentração de arilsulfatase também aumenta. Essa tendência sugere que esses parâmetros possuam alguma relação, corroborando com os resultados obtidos da correlação de Pearson e Spearman. Além disso, é importante destacar que embora a relação entre arilsulfatase e MO seja positiva, não há necessariamente uma correspondência direta entre os dois parâmetros, fato também evidenciado pelo *p-valor* igual a 0,046 obtido nessa correlação.

Como apresentado por Balota (2011) e Tabatai e Bremner (1970), a adição de material orgânico via resíduos vegetais é um dos principais reservatórios de ésteres e sulfatos no solo. Portanto, a taxa de atividade da enzima arilsulfatase tende a aumentar, visto ser a principal sulfatase responsável pela mineralização desses ésteres e sulfatos, justificando assim os resultados de correlação moderadas obtidos para a MO. Porém, também é citado pelos autores que a atividade enzimática da arilsulfatase depende do teor de enxofre no solo, o que não foi evidenciado nas análises do presente trabalho.

Figura 22 – Gráfico de dispersão entre os parâmetros β -glicosidase e MO das amostras de solo analisadas



Fonte: O autor (2023)

Com base no gráfico apresentado na Figura 22, é possível observar que há uma relação positiva entre a enzima β -glicosidase e o parâmetro MO. Entretanto, assim como foi constatado na Figura 21, a relação não é linear, visto que nem todas as concentrações de MO crescem na

mesma proporção que a β -glicosidase. Desta forma, mesmo com a não linearidade, é possível observar que a interação entre esses dois parâmetros gera uma relação de dependência das concentrações, reforçando a existência de correlação apresentado pelo teste de Pearson e Spearman realizados.

A não linearidade observada nos gráficos das Figuras 20, 21 e 22 pode estar diretamente ligada à diferença de manejo de cada solo. Conforme apresentado na Tabela 6, a coleta do solo limitou-se a diferentes municípios do Rio Grande do Sul; porém, não é possível estabelecer relação da disponibilidade de nutrientes das amostras de mesma região. Esse fato está atrelado ao tipo de cultura de cobertura e sistemas de preparo aplicados no solo, que altera significativamente as atividades enzimáticas e consequentemente a disponibilidade de nutrientes (BALOTA, 2011).

Outra hipótese da falta de linearidade obtida nas correlações identificadas pode estar atrelada à profundidade de coleta realizada de 0 a 20 cm, como prevista na metodologia da análise química (TEDESCO, 1995). Segundo Tabatabai (1994), a profundidade ideal de coleta para realizar o ensaio laboratorial biológico é de 0 a 10 cm, visto que quanto maior a profundidade do solo, menor será o teor de substrato orgânico, e consequentemente menor a atividade enzimática.

Ademais, os outros parâmetros analisados, como pH, SMP e enxofre, não demonstraram uma correlação significativa ou não satisfizeram os requisitos para participar dos testes de correlação. A relação do nível de acidez e alcalinidade é pauta de outros trabalhos, que relatam a dificuldade de estabelecer uma relação entre o pH e as atividades enzimáticas arilsulfatase e β -glicosidase. Assim como apresentado por Wade *et al.* (2021), os picos de concentração de β -glicosidase apresentaram-se, principalmente, em pH neutro ou mais alcalinos, enquanto a arilsulfatase teve predominância em pH mais ácido, como citado por Balota (2004).

Porém, de maneira congruente a trabalhos como Wade *et al.* (2021), a atividade enzimática, assim como as funcionalidades das enzimas, tende a reduzir quando em níveis de acidez distantes ao pH “ideal” para atingir o pico de atividade. Por exemplo, na referência citada, o pH é próximo a 6,0 para a enzima β -glicosidase atingir o pico de trabalho. Dessa forma, os métodos de correlação podem não ser eficazes para determinar o tipo de relação, direta ou indireta, na presença de atividade enzimática com o nível de pH das amostras de solo, visto que ao atingir pH mais alcalino as atividades enzimáticas podem reduzir, assim como ao atingirem níveis mais baixos de pH.

Outrossim, devido ao número limitado de amostras coletadas, não foi possível separar os dados pelas concentrações altas, médias e baixas, dos parâmetros analisados. A hipótese de

trabalhar com maior quantidade de amostras poderia evitar a limitação e redução do número de variáveis em função de exclusões, fator esse que pode ter contribuído para a imprecisão de algumas correlações encontradas.

5 CONCLUSÕES

Para este trabalho foram separadas amostras de solo e realizadas análises físico-químicas (pH, SMP, cobre, matéria orgânica e enxofre) e biológicas (atividade enzimática de arilsulfatase e β -glicosidase) e posteriormente avaliado os resultados por testes de correlação de Spearman e Pearson e literaturas disponíveis.

Primeiramente, os resultados quantitativos fornecidos pelo laboratório foram analisados, onde apresentaram algumas concentrações fora da faixa agronômica estipulada pelo ROLAS. Dessa forma, os mesmos foram excluídos afim de manter coerência com os intervalos de concentrações do estado do Rio Grande do Sul.

A aplicação do teste de correlação de Spearman, após tratamento dos dados, apresentou correlação moderada satisfatória entre a atividade enzimática arilsulfatase com a MO e para enzima β -glicosidase com cobre e MO, resultando em coeficiente de correlação entre 0,500 e 0,650 e *p*-valor inferior a 0,05. As correlações entre arilsulfatase e os parâmetros químicos enxofre, pH, SMP e cobre apresentaram correlação fraca e/ou ultrapassaram o limite do *p*-valor de 0,05, assim como as correlações entre β -glicosidase e os parâmetros enxofre, pH e SMP. Sendo assim, a partir do teste de Spearman, foi possível identificar existência de correlação apenas entre o cobre e a enzima β -glicosidase e a MO e as duas enzimas.

Quanto ao teste de correlação de Pearson, apenas a MO apresentou correlação satisfatória com as enzimas β -glicosidase e arilsulfatase, tendo coeficiente de correlação forte e moderado, respectivamente. Por outro lado, pH e SMP apresentaram correlação fraca e/ou ultrapassaram o limite do *p*-valor de 0,05, enquanto cobre e enxofre não foram considerados no teste, uma vez que foram reprovados no teste de normalidade.

Em geral, os resultados estatísticos, assim como quando comparados à literatura, apresentaram correlação entre as atividades enzimáticas com alguns dos parâmetros físico-químicos propostos especialmente a MO que teve correlação forte e/ou moderada em ambos testes com as duas enzimas. O cobre, por sua vez, apresentou correlação moderada exclusivamente com a enzima β -glicosidase pelo teste de Spearman.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para trabalhos futuros envolvendo este tema, sugere-se algumas alterações e adições no escopo proposto. Conforme apresentado, algumas amostras foram desconsideradas em determinadas situações, como ultrapassar a faixa agronômica ou atingir o limite de detecção do equipamento. Desta forma, seria interessante adicionar um maior número de amostras analisadas, a fim de aumentar a amplitude dos resultados de correlação.

Além disso, a padronização de coleta seria um importante ponto a ser alterado, realizando a mesma conforme sugerido por Tabatabai (1994), com profundidade de coleta de 0 a 10 cm e não na faixa de 0 a 20 cm, como realizado. Esse aspecto influencia diretamente na redução da atividade enzimática, já que quanto mais profundo no solo, menor é a disponibilidade de MO.

Por fim, para melhor compreensão da relação entre a atividade enzimática do solo com os nutrientes, pode ser interessante realizar a contaminação de algumas amostras. Por exemplo, adicionando fungicida, de maneira controlada, para aumentar a concentração de cobre no solo e realizar a análise do material anteriormente e posteriormente à adição e comparar como a atividade enzimática se portou nas diferentes situações.

REFERÊNCIAS

- ALDRICH, J. Correlations Genuine and Spurious in Pearson and Yule. **Statistical Science**, v. 10, n. 4, p. 364-376, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1214/ss/1177009870>. Acesso em: 14 out. 2022.
- ALVES, L. M. C. **Cinética Enzimática**: estudo da velocidade da reação enzimática e como ela se altera em função de diferentes parâmetros. São Paulo: Unesp, 2015. 31p.
- ANDERSON, S; SCHAETZL, R. J. **Soils**: Genesis and Geomorphology. [S. l.]: Cambridge University Press, 2005. 832 p. ISBN 9780521812016.
- AREND, K. **Substâncias húmicas e formas de cobre em solos de áreas de videiras**. 2010. 116 p. Doutorado — Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.
- BALOTA, E. L *et al.* Effect of tillage systems and permanent groundcover intercropped with orange trees on soil enzyme activities. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 2, p. 221-228, abr. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1516-89132011000200001>. Acesso em: 15 dez. 2022.
- BALOTA, E. L *et al.* Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology**, vol. 35, no. 4, p. 300-306, Dec. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1517-83822004000300006>. Acesso em: 15 abr. 2023.
- BIOL, J. M. **Crystal structure of an Arylsulfatase**. 2001. Disponível em: https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/search/index/?searchParams=%7B%22q_uniprot%22:%5B%22P50428%22%2C%22condition1%22:%5B%22AND%22%2C%22condition2%22:%5B%22Contains%22%7D%2C%22value%22:%5B%22P15289%22%2C%22condition1%22:%5B%22OR%22%2C%22condition2%22:%5B%22Contains%22%7D%2C%22resultState%22:%5B%22tabIndex%22:%5B%220%22%2C%22paginationIndex%22:%5B%221%22%2C%22perPage%22:%5B%2210%22%2C%22sortBy%22:%5B%22Sort%20by%22%7D%7D. Acesso em: 11 nov. 2022.
- BRANCO, P. M. **O Intemperismo e a Erosão**. 2014. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/publique/SGB-Divulga/Canal-Escola/O-Intemperismo-e-a-Erosao-1313.html#:~:text=Dá-se%20o%20nome%20de,expostas%20na%20superfície%20da%20Terra>. Acesso em: 14 set. 2022.
- BRASIL. **Lei nº 11.428, de 22 de dezembro de 2006**. Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do bioma mata atlântica, e dá outras providências. Brasília, 2006. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/111428.htm. Acesso em: 06 set. 2022.
- BRASIL. **Decreto nº 75.583, de 9 de abril de 1975**. Regulamenta a lei 6.138, de 8 de novembro de 1974 que dispõe sobre a inspeção e fiscalização do comércio de fertilizantes, corretivos e inoculantes destinados a agricultura.
- BRASIL. **Levantamento de reconhecimento dos solos do estado do Rio Grande do Sul**. Recife: Ministério da Agricultura, 1973. 482 p. Brasília, 1975.

BRUM, L. N *et al.* Variabilidade espaço-temporal da acidez potencial estimada pelo pH SMP de neossolos, após a inserção da cultura da soja, com preparo convencional. In: BRUM, Lucas Nascimento *et al.* **Solos nos biomas brasileiros 3**. [S. l.]: Antonella Carvalho de Oliveira, 2018. p. 149-159.

CAIN, M. L; BOWMAN, W. D; HACKER, S. D. **ECOLOGIA**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018. 665 p.

CETESB. **Qualidade do Solo**: Definição. 2022a. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/solo/>. Acesso em: 15 set. 2022.

CETESB. **Qualidade do Solo**: Propriedades. 2022b. 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.> Acesso em: 15 set. 2022.

CHAPMAN, S. J. Review of Discovering Statistics Using IBM SPSS Statistics, 4th Edition. **Journal of Political Science Education**, v. 14, n. 1, p. 145-147, 8 nov. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15512169.2017.1366328>. Acesso em: 30 maio 2023.

CHIDA, N; SATO, T. 2.8 Chiral Pool Synthesis: Chiral Pool Syntheses Starting from Carbohydrates. In: CHIDA, N.; SATO, T. **Comprehensive Chirality**. [S. l.]: Elsevier, 2012. p. 207-239. ISBN 9780080951683. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-095167-6.00203-2>. Acesso em 26 set. 2022.

COOPER, M. **Micromorfologia de solos**: bases e aplicações em regiões tropicais. São Paulo: Universidade Federal de Goiás (UFG), 2015.

CUNHA, T. J; MENDES, A. M. S; GIONGO, V. Recurso solo. **Matéria Orgânica do Solo**, n. 9, p. 203-293. São Carlos: Cubo, 2015.

DAROIT, D. J. **Caracterização de uma beta-glicosidase de *Monascus purpureus***. 2007. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da UFRGS, [s. l.], 2007. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/11735>. Acesso em: 22 set. 2022.

DAVIES, G; HENRISSAT, B. Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases. **Structure**, v. 3, n. 9, p. 853-859, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(01\)00220-9](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(01)00220-9). Acesso em: 25 set. 2022.

DIONÍSIO, J.A. **Guia prático de biologia do solo**. Curitiba: SiBCS, 2016. 160 p.

DUXBURY, J.M; SMITH, M.S.; DORAN, J.M. (1989) **Soil Organic Matter as a Source and a Sink of Plant Nutrients**. In: COLEMAN, D.C.; OADES, J.M.; UEHARA, G. Eds., Dynamics of Soil Organic Matter in Tropical Ecosystems, Volume 2, USA: University of Hawaii, Honolulu, 1989. 33-67 p.

EMBRAPA. **BioAS – Tecnologia de Bioanálise de Solo**. 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/6047/bioas--tecnologia-de-bioanalise-de-solo->. Acesso em: 21 set. 2022.

- MATTOS, V. L. D; KONRATH, A. C; AZAMBUJA, A. M. V. **Introdução a estatística: aplicação em ciências exatas**. Rio de Janeiro: GenLt, 2017. 287 p.
- MENDES, I. C *et al.* **Bioanálise de Solo: a mais nova aliada para a sustentabilidade agrícola**. São Paulo: NPCT, 2018.
- MENDES, I. C; REIS, F. B. J; CHAER, G. **Protocolo de determinação da atividade das enzimas β -Glicosidase e Arilsulfatase**. Brasília: Embrapa, 2021. 14p.
- MICHAELIS, L; MENTEN, M. M. L. **Die kinetik der invertinwirkung**. [S. l.]: Biochem, 1913. 352 p.
- MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de fitopatologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001. 150 p.
- NANMPIERI, P; CECCANTI, B; BIANCHI, D. Characterization of humus-phosphatase complexes extracted from soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 20, n. 5, p. 683-691, 1988. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(88\)90153-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(88)90153-8). Acesso em: 18 set. 2022.
- PENTEADO, J. **Transferência de tecnologia: pinus**. 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/florestas/transferencia-de-tecnologia/pinus/perguntas-e-respostas>. Acesso em: 18 set. 2022.
- PRADO, H. **Pedologia Fácil: Aplicações em solos tropicais**. 6. ed. Piracicaba: PedologiaFácil, 2022.
- RABELO, C. G *et al.* **Influência do uso do solo na qualidade da água no bioma cerrado: um estudo comparativo entre bacias hidrográficas no Estado de Goiás**. Revista Ambiente & Água, Taubaté, v. 4, n. 2, p. 172-187, 2009.
- REZENDE, G. M; COSTA, N. D; DIAS, R. C. S. **Sistema de Produção de Melancia: Plantio**. 2010. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/plantio.htm>. Acesso em: 14 out. 2022.
- ROSA, A. S. **Unidade 4 - Uso de informações sobre solos**. Santa Maria: UFSM, 2010. 36p.
- SAMPAIO, F. M. T *et al.* **Correlações entre a permeabilidade e os atributos físicos do solo da sub-bacia do córrego centenário da cidade de Lavras-MG**. Ciência e Agrotecnologia, v. 30, n. 4, p. 798-803, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1413-70542006000400030>. Acesso em: 19 out. 2022.
- SANTANA, M. S *et al.* **Impacto da mudança do uso da terra sobre a densidade do solo em Argissolo no Semiárido**. Brasília: Embrapa Semiárido, 2018. 6 p.
- SANTOS, H. G *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5ª ed. Brasília: Embrapa Solos, 2018. 356 p.

SARRY, J; GUNATA, Z. Plant and microbial glycoside hydrolases: Volatile release from glycosidic aroma precursors. **Food Chemistry**, v. 87, n. 4, p. 509-521, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.003>. Acesso em: 25 set. 2022.

SHAPIRO, S. S; WILK, M. B. **An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples)**. *Biometrika*, v. 52, n. 3/4, p. 591, 1965. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/2333709>. Acesso em: 21 out. 2022.

SIBCS, Embrapa. **Solos do Brasil**. 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/solos/sibcs/solos-do-brasil>. Acesso em: 20 nov. 2022.

SILVA, E. A. **Abordando o solo na escola: composição e contaminação do solo**. 2. ed. Curitiba. 2017. 20 p.

SILVA, R. F *et al.* Efeito do cobre sobre o crescimento e qualidade de mudas de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. e *Cassia multijuga* Rich. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, 30 set. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/1980509815730>. Acesso em: 27 abr. 2023.

SILVA, R. F *et al.* Efeito do cobre sobre o crescimento e qualidade de mudas de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. e *Cassia multijuga* Rich. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, 30 set. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/1980509815730>. Acesso em: 27 abr. 2023.

SINSABAUGH, R. L. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 3, p. 391-404, mar. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.014>. Acesso em: 29 maio 2023.

SKUJIŇŠ, J; BURNS, R. G. Extracellular Enzymes in Soil. **CRC Critical Reviews in Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 383-421, jan. 1976. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/10408417609102304>. Acesso em: 18 set. 2022.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. **Manual de calagem e adubação para os estados do Rio Grande do sul e Santa Catarina**. 11th ed. Santa Maria: Comissão de Química e Fertilidade do Solo, 2016. 376 p.

SOUSA, D. M. G; LOBATO, E. **Cerrado: Correções do solo e adubação**. 2. ed. Brasília: Embrapa, 2004. 420 p.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In WEAVER R. W. *et al.* (ed). **Methods of Soil Analysis: Part 2. Microbiological and Biochemical Properties**. SSSA Book Series. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America, 1994. p. 775-833. ISBN 9780891188650. Disponível em: <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.2.c37>.

TABATABAI, M. A; SINGH, B. B. Kinetic parameters of the rhodanese reaction in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 11, n. 1, p. 9-12, 1979. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(79\)90111-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(79)90111-1). Acesso em: 18 set. 2022.

TABATABAI, M. A; BREMNER, J. M. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 1, n. 4, p. 301-307, 1969. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(69\)90012-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(69)90012-1). Acesso em: 18 set. 2022.

TABATABAI, M. A; BREMNER, J. M. Factors Affecting Soil Arylsulfatase Activity. **Soil Science Society of America Journal**, v. 34, n. 3, p. 427-429, maio 1970. Disponível em: <https://doi.org/10.2136/sssaj1970.03615995003400030023x>. Acesso em: 15 dez. 2022.

TEDESCO, J *et al.* **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, 1995. 174 p.

TEIXEIRA, P. C *et al.* **Manual de métodos de análise de solo**. 3. ed. Brasília: Embrapa, 2017. 577 p.

UFMS. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2021. Disponível em: <https://www.ufsm.br/museus/msrs/unidade-de-solos/>. Acesso em: 6 set. 2022.

VASSÃO, D. G *et al.* Plant Defensive β -Glucosidases Resist Digestion and Sustain Activity in the Gut of a Lepidopteran Herbivore. **Frontiers in plant science**, v. 9, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01389>. Acesso em: 22 nov. 2022.

VIEIRA, R. F. **Ciclo do Nitrogênio em Sistemas Agrícolas**. Brasília: Embrapa, 2017. 165 p.

VILELA, E. F *et al.* **Biomass e agricultura: oportunidades e desafios**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2019. 306 p.

VITTI, G. C; OTTO, R; SAVIETO, J. S. **Manejo do enxofre na agricultura**. Informações agronômicas, n. 152, p. 14, 2015.

WADE, J *et al.* Prescribed pH for soil β -glucosidase and phosphomonoesterase do not reflect pH optima. **Geoderma**, v. 401, p. 115161, nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.115161>. Acesso em: 15 dez. 2022.

WOLF, A. M; BEEGLE, D. B.; HOSKINS, B. Comparison of Shoemaker–McLean–Pratt and Modified Mehlich Buffer Tests for Lime Requirement on Pennsylvania Soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 39, n. 11-12, p. 1848-1857, 27 maio 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00103620802073834>. Acesso em: 14 dez. 2022.

WYSZKOWSKA, J *et al.* Effect of cadmium, copper and zinc on plants, soil microorganisms and soil enzymes. **Journal of Elementology**, n. 4/2013, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5601/jelem.2013.18.4.455>. Acesso em: 03 out. 2022.

WYSZKOWSKA, J; KUCHARSKI, J; KUCHARSKI, M. Activity of β -glucosidase, arylsulfatase and phosphatases in soil contaminated with copper. **Journal of Elementology**, n. 1/2010, 18 mar. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5601/jelem.2010.15.1.213-226>. Acesso em: 14 dez. 2022.

ZANG, X *et al.* The structural and functional contributions of β -glucosidase-producing microbial communities to cellulose degradation in composting. **Biotechnology for Biofuels**, v. 11, n. 1, 27, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1045-8>. Acesso em: 26 set. 2022.