

6| Evidências: A gestão da qualidade do solo com base em indicadores biológicos

Autores: Francisco Basílio, Teresa Dias1, Juliana Melo1; Cristina Cruz1

1 cE3c - Center for Ecology, Evolution and Environmental Changes & CHANGE - Global Change and Sustainability Instituto, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Edifício C2, Piso 5, Sala 2.5.03, Campo Grande, 749-016 Lisboa, Portugal.



As propriedades físicas, químicas e biológicas do solo podem ser usadas para avaliar a qualidade do solo (Adetunji et al., 2017).

Os indicadores de qualidade do solo são de grande importância se puderem ser usados para monitorizar o impacto de gestões específicas do solo e práticas agrícolas na saúde do solo (Bending et al., 2002; Alvear et al., 2005). Aqui, vamos focar os indicadores biológicos, bioindicadores, e a sua importância para levar a agricultura a um patamar mais elevado de sustentabilidade.

Sabe-se que a biodiversidade do solo está relacionada com a integridade, funcionamento e sustentabilidade do solo em ecossistemas naturais e geridos. De facto, sabe-se que mudanças na biodiversidade alteram os processos dos ecossistemas e alteram a resiliência dos ecossistemas às mudanças climáticas (Chapin et al., 2000). Um bioindicador aborda a qualidade de todo ou apenas parte de um ecossistema e pode ser um organismo, uma parte de um organismo, um produto de um organismo, uma coleção de organismos ou um processo biológico (Killham e Staddon, 2002). Um bom bioindicador deve capturar a complexidade do ecossistema avaliado, embora deva ser simples o suficiente para ser fácil e frequentemente monitorizado.

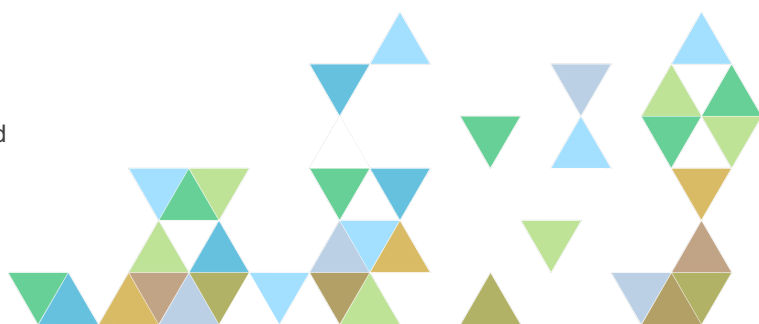
O desafio é usar um conjunto de bioindicadores que sejam representativos de todos os componentes do ecossistema, respeitando os critérios descritos acima (Dale e Beyeler, 2001; Dale et al., 2008). No entanto, para uma interpretação eficiente do impacto da estação agrícola, é importante integrar os dados dos bioindicadores com indicadores químicos e físicos, a fim de ter uma abordagem mais holística para a análise do solo.

Soil extracellular enzyme activity

As atividades enzimáticas extracelulares do solo (SEEA) são dos bioindicadores mais comuns. As enzimas extracelulares são produzidas por plantas, animais e microrganismos, sendo a



This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 952051



comunidade de microrganismos a principal fonte de produção de enzimas no solo. As enzimas do solo estão intrinsecamente correlacionadas com as propriedades químicas do solo (ex: matéria orgânica; pH), físicas (ex: temperatura e textura do solo) e biológicas (ex: atividade microbiana e biomassa) (Dick et al., 1997). Assim, a sua atividade é um bioindicador adequado para a qualidade do solo, uma vez que os SEEA respondem rapidamente a mudanças, são facilmente mensuráveis, fortemente relacionados com a biodiversidade e desempenham um papel em muitos processos e reações importantes, como reciclagem, transformação de matéria orgânica e catalisação da maioria das reações biológicas, entre outros (Bending et al., 2002; Alvear et al., 2005; Utobo e Tewari, 2015). No entanto, é importante notar que a SEEA ilustra a atividade enzimática potencial do solo, mas não a atividade in-situ, uma vez que as determinações são desenvolvidas sob um conjunto estrito de pH, temperatura e concentração de substrato que diferem dos observados in-situ (Dick e outros, 1997). Ao avaliar a qualidade do solo por meio da análise da atividade enzimática, é necessário considerar que a monitorização de uma única atividade enzimática não resulta numa avaliação precisa da qualidade do solo. Isso ocorre porque uma única enzima responsável por catalisar apenas uma determinada reação não pode ser representativa de toda a atividade microbiológica do solo ou de todo o estado nutricional do solo devido à alta diversidade de microrganismos, substratos e processos no sistema do solo. A fertilidade do solo, a qualidade do solo e os processos microbianos do solo são o resultado de um conjunto diversificado de reações enzimáticas distintas. Assim, um conjunto de atividades enzimáticas deve ser selecionado para ser monitorado para fornecer uma representação adequada da diversidade dos processos metabólicos do ecossistema do solo (Nannipieri et al., 2012).

É comum a SEEA selecionada estritamente relacionada com a reciclagem dos principais nutrientes do solo como carbono (C), azoto (N) e fósforo (P). Além disso, às vezes as atividades enzimáticas relacionadas com o enxofre também são analisadas. A SEEA pode estar relacionada com o equilíbrio entre a abundância de nutrientes específicos no solo e sua demanda pela microbiota do solo. Como regra geral, podemos assumir que a produção de enzimas é regulada por retroalimentação negativa, ou seja, em condições de escassez de nutrientes há um investimento na produção de enzimas, enquanto que em condições de abundância há uma redução na produção de enzimas. Além disso, a SEEA pode ser influenciada pela presença ou ausência de inibidores. Por exemplo, quando certos tipos de metais pesados estão presentes no solo, espera-se uma inibição de pelo menos alguns SEEA, como fosfatases. Desta forma, a análise de alguns SEEA pode prever a presença de poluentes no solo.

O pH é um dos fatores mais relevantes na modelação da SEEA. Quando o pH do solo se afasta do pH ideal do SEEA, a atividade enzimática normalmente diminui. Os SEEA produzidos por plantas, microbiota e animais são excretados para o solo onde se ligam a partículas do solo, como argila, ou são incorporados a substâncias húmicas (de Almeida et al., 2015). Em resumo, as SEEA são de significativa importância devido à sua capacidade de: decomposição de insumos orgânicos, transformação da matéria orgânica do solo, transformação de nutrientes



indisponíveis em formas disponíveis, participação na fixação de N₂, desintoxicação de xenobióticos e sua contribuição para os processos de nitrificação e desnitrificação.

β-glucosidase

A celulose é o polímero mais abundante na biosfera e é o principal componente da biomassa vegetal. É considerada a principal fonte de hidratos de carbono e carbono para os microrganismos do solo e animais herbívoros (Stone, 2001; Klemm et al., 2005; Štursová et al., 2012). O processo de degradação da celulose é conduzido por um complexo enzimático chamado celulase. A celulase é constituída por três enzimas diferentes que quebram as ligações β-1,4-glicosídicas da celulose para obtenção de glicose, a saber: endo-β-1,4-D-glucanase, exo-β-1,4-D-glucanase e β-glicosidase, sendo a β-glicosidase a enzima que catalisa a última reação para obtenção de glicose. O trabalho sinérgico entre essas três enzimas pode aumentar significativamente a taxa de hidrólise da celulose, enquanto cada enzima sozinha não é capaz de degradar completamente o complexo de celulose (Xi et al., 2013). Desta forma, um aumento na atividade da β-glicosidase pode refletir em uma maior capacidade do solo em quebrar os resíduos vegetais, melhorando a disponibilidade de nutrientes no solo, bem como a ciclagem e o armazenamento de carbono no solo. Além disso, o aumento dessa atividade geralmente está relacionado com o aumento da biomassa microbiana do solo (Stott et al., 2010). Como a celulose é a principal fonte de hidratos de carbono mais comumente consumida pela microbiota do solo, a atividade da β-glicosidase pode estar relacionada com as frações de carbono mais lábeis do solo. Dessa forma, a análise da atividade dessa enzima pode indicar a presença e o status de fontes de carbono no solo de boa qualidade. Assim, como a atividade da β-glicosidase está intimamente relacionada não apenas com a quantidade de matéria orgânica do solo, mas também com sua qualidade, ela pode fornecer informações sobre as alterações no estado do carbono orgânico do solo de maneira rápida e sensível.

Devido à sensibilidade da enzima ao pH, uma mudança em sua atividade também pode indicar uma mudança no pH do solo. (Acosta-Martinez e Tatabai, 2000) Isso significa que mudanças no pH do solo que se desviam da faixa de pH ideal da β-glicosidase (cerca de 5) diminuirão a sua atividade. Alta salinidade e concentrações de metais pesados no solo também estão relacionadas com a inibição da atividade da β-glicosidase (Geiger et al., 1993). A Tabela 1 resume as características da atividade da β-glicosidase como um bioindicador do solo.

Table 1: Características da β-glucosidase como bioindicador da saúde do solo.

Principais funções	Bioindicador	Ativadores	Inibidores
Ciclo de nutrientes	Quantidade e qualidade de matéria orgânica	Matéria orgânica (Carbono da fração lábil-celulose)	Glucose
Decomposição da matéria orgânica (Fração de carbono lábil. celulase)	Decomposição de matéria orgânica	Deficiência de carbono	Metais pesados Salinidade



This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 952051

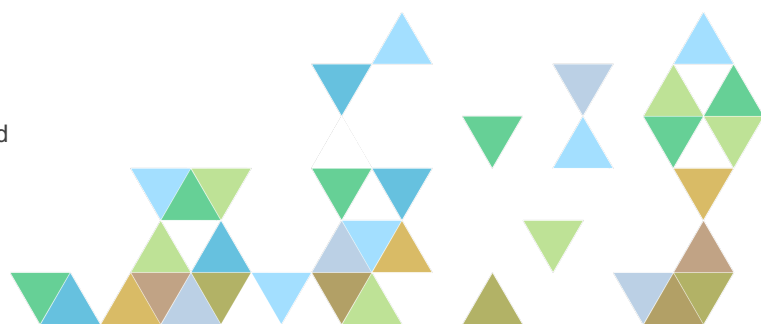
Fornecedor de glucose ao ecossistema	Fertilidade do solo	Disponibilidade de N e P	Seca
	Estado do ciclo de carbono	Crescimento microbiano	
	Demanda de nutrientes por parte da biota do solo		
	Crescimento microbiano		
	Presença de poluentes		
	Salinidade e hidratação do solo		

β -xylosidase

A hemicelulose, em geral, é o segundo polímero mais abundante na biomassa vegetal. O xilano é um dos tipos mais comuns de hemicelulose e é um polímero feito de xilose ligada por ligações β -1,4-glicosídicas (Nair et al., 2016; Bhardwaj et al., 2019). A degradação da hemicelulose requer um complexo enzimático chamado hemicelulase. O complexo hemicelulase responsável pela degradação do xilano é denominado xilanase e é composto por endo-1,4- β -D-xilanase, α -glucuronidase, acetilxilanesterase, α -L-arabinofuranosidases, p-cumárico esterase, ácido ferúlico esterase e β -D-xilosidases. A degradação do xilano resultam monossacarídeos de xilose que podem ser usados como fonte de carbono por alguns microrganismos (Linton e Greenaway, 2004; Bhardwaj et al., 2019). A glucose é considerada a fonte de carbono pelos microrganismos do solo, onde a xilose é consumida apenas como fonte alternativa de carbono, quando a glucose é escassa no solo (Sievert et al., 2017). Assim, pode-se considerar que a glucose é uma fonte de carbono mais lábil e facilmente consumida do que a xilose, uma fonte de carbono mais recalcitrante, pois a sua aquisição por hidrólise é mais complexa. Desta forma, a atividade da β -xilosidase pode fornecer informações sobre a quebra e o consumo de reservas de carbono mais recalcitrantes. A Tabela 2 resume as características da atividade da β -xilosidase como bioindicador do solo.

Table 2: Características da β -xylosidase como bioindicador da saúde do solo.

Principais funções	Bioindicador	Ativadores	Inibidores
Ciclo de nutrientes	Quantidade e qualidade da matéria orgânica	Matéria orgânica (frações de carbono recalcitrante - Xilano)	Xilose
Decomposição da matéria orgânica (Fracção de carbono recalcitrante - Xilano)	Decomposição da matéria orgânica	Hemicelulose (xilano)	Frações lábeis de C
		Escassez de carbono	Metais pesados
			Salinidade



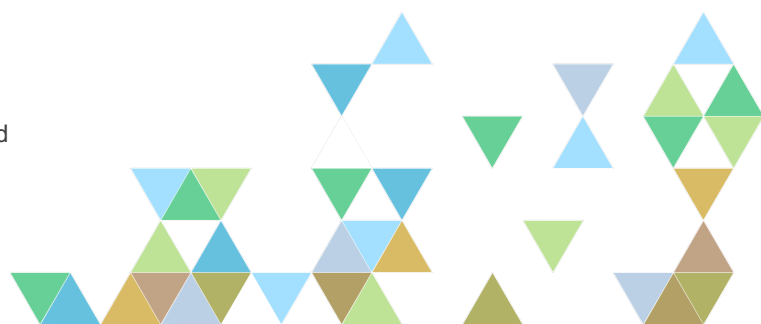
Xylose provider for the ecosystem	<p>Nível de carbono no solo e do ciclo de carbono</p> <p>Necessidade de nutrientes pela microbiota do solo</p> <p>Crescimento microbiano</p> <p>Presença de poluentes no solo</p> <p>Salinidade e hidratação do solo</p>	<p>Disponibilidade de N e P</p> <p>Crescimento microbiano</p>	Seca
-----------------------------------	--	---	------

N-acetyl-β-glucosaminidase

A mineralização de compostos orgânicos de azoto é mediada principalmente por enzimas produzidas por microrganismos do solo. A atividade da N-acetil-β-glucosaminidase está associada à obtenção de azoto a partir da hidrólise de quitina e peptidoglicano, de fungos e bactérias, respetivamente, por meio da remoção da N-acetil-glucosamina terminal. Uma vez que a quitina e o peptidoglicano são considerados uma fração significativa do azoto no solo, a N-acetil-β-glucosaminidase é uma enzima importante para a aquisição de N da fração de azoto orgânico. Além disso, como a quitina é uma fonte abundante de matéria orgânica no solo, essa enzima também pode contribuir para a aquisição de CARBONO e fluxo de energia (Mori et al., 2021; Sinsabaugh et al., 2008; Su et al., 2016, Ueno et al., 1991). A N-acetil-β-glucosaminidase pode ser usada como um índice de mineralização de azoto no solo. Em alguns casos, em condições de abundância de azoto, foi detetada uma alta atividade de N-acetil-β-glucosaminidase que pode refletir outros fatores além da demanda de azoto, como biomassa fúngica, já que a quitina vem de fungos (Wang et al., 2022). A Tabela 3 resume as características da atividade da N-acetil-β-glucosaminidase como bioindicador do solo.

Table 3: Características da *N-acetyl-β-glucosaminidase* como bioindicador da saúde do solo

Principais funções	Bioindicador	Ativadores	Inibidores
Ciclo de nutrientes	Qualidade da matéria orgânica	Carbono orgânico do solo	Disponibilidade de azoto
Decomposição de quitina e peptidoglicanos	Decomposição da matéria orgânica	Quitina Peptidoglicanos	Seca
Fornecedor de carbono e azoto ao ecossistema	Aquisição de carbono e azoto	Deficiência de carbono e azoto	



	<p>Demanda de nutrientes pela microbiota</p> <p>Presença de quitina e peptidoglicanos no solo</p> <p>Biomassa fungica</p> <p>Crescimento microbiano</p>	<p>Disponibilidade de carbono</p> <p>Potencial de mineralização de azoto</p> <p>Fósforo orgânico</p> <p>Carbono na biomassa microbiana</p> <p>Crescimento microbiano</p>	
--	---	--	--

Fosfatase

As fosfatases estão relacionadas com a aquisição de fósforo a partir de compostos orgânicos (Tarafdar e Claassen, 1988). As fosfatases podem degradar o seu substrato em condições de pH ácido ou alcalino. As fosfatases ácidas apresentam atividade catalítica ideal em faixas de pH ácido. Para as fosfatases alcalinas, os valores de pH alcalino estão associados a um melhor desempenho catalítico. As fosfatases alcalinas são produzidas exclusivamente pela microbiota do solo, enquanto as fosfatases ácidas são produzidas tanto pela microbiota do solo quanto pela planta. A matéria orgânica do solo é o principal substrato para a atividade das fosfatases (Acuña et al., 2016). Os microrganismos solubilizadores de fósforo são microrganismos capazes de solubilizar fósforo, ou seja, converter as formas indisponíveis de fósforo em formas disponíveis. Um desses mecanismos é a excreção de fosfatases. Essa excreção pode ser motivada pela necessidade de consumo de fósforo e/ou pela falta de fósforo disponível no solo. A concentração de fósforo disponível parece regular a produção de fosfatase: há maior produção de fosfatase quando há uma diminuição significativa na concentração de fósforo disponível e por sua vez a atividade da fosfatase diminui quando o fósforo disponível abundante está disponível (Rodríguez e Fraga, 1999; Baldwin et al., 2001; Wasaki et al., 2003). O P total compreende todas as formas de P presentes no solo, incluindo aquelas formas que não são compatíveis como substrato para fosfatases como as formas recalcitrantes ocluídas de fósforo. Uma vez que apenas uma pequena fração do pool de fósforo orgânico é capaz de liberar ortofosfatos livres através da fosfatase reações, o pool de fósforo total é um mau preditor da atividade da fosfatase. Solos com alto pool de fósforo orgânico foram positivamente correlacionados com a atividade potencial da fosfatase ácida e, portanto, sendo o reservatório de fósforo orgânico um substrato natural para a fosfatase, é um indicador da capacidade do sistema em obter fósforo por meio da atividade da fosfatase (Margalef et al., 2017). Devido ao fato de as leguminosas necessitarem de mais fósforo para o estabelecimento da relação rizóbio-simbiótica, essas plantas são descritas como produtoras de maior concentração de fosfatases do que as plantas de cereais. As fosfatases necessitam de uma quantidade considerável de N para



sua formação e atividade, desta forma um aumento na disponibilidade de N geralmente está associado a um aumento na atividade da fosfatase. Uma vez que a demanda de fósforo por plantas e microrganismos pode estar ligada à produção e atividade da fosfatase do solo (Condrón et al., 2005), esta atividade enzimática pode ser usada como um indicador da disponibilidade de fósforo inorgânico para plantas e microrganismos (Piotrowska-Długosz e Charzynski, 2015).

Table 4: Características da *fosfatase* como bioindicador da saúde do solo

Principais funções	Bioindicador	Ativador	Inibidor
Ciclo de nutrientes	Quantidade e qualidade da matéria orgânica	Matéria orgânica	
Decomposição da matéria orgânica	Ciclo do fósforo	Reservatório de fósforo orgânico	Ostofosfases
Fornecedor de ortofosfato para o sistema	Crescimento microbiano	Disponibilidade de azoto	Metais pesados
	Necessidade de nutrientes pela microbiota do solo	Deficiência de fósforo	Salinidade
	Presença de metais pesados	Crescimento microbiano	Seca

7

Micorrizas arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares são conhecidos por estabelecerem simbioses com as raízes das plantas, conferindo nutrientes à planta, em troca de hidratos de carbono. A presença desses fungos no solo é muitas vezes percebida como positiva para as culturas devido à sua capacidade de trocar os nutrientes necessários com as plantas. Até 20% do total de fotossintetizados gerados pela planta podem ser fornecidos aos fungos micorrízicos arbusculares. Apesar disso, os micélios dos fungos micorrízicos arbusculares também libertam compostos de carbono influenciando a biota do solo. Em relação ao azoto, vários estudos têm mostrado a capacidade dos micorrízicos arbusculares fornecerem azoto para a planta a partir de fontes orgânicas como matéria orgânica e folhada. Curiosamente, os fungos micorrízicos arbusculares convertem o azoto orgânico em forma de azoto inorgânico antes de liberá-lo para a planta. Ao contrário do fósforo, a aquisição de azoto pelos fungos micorrízicos arbusculares não está diretamente relacionada com a quantidade de azoto disponível no solo, pois a relação entre fungos micorrízicos arbusculares e aquisição de azoto é complexa e depende de muitos fatores. No entanto, parece que o status de fósforo no solo é um fator relevante que pode moldar essa relação. De todos os nutrientes, o fósforo parece ser um dos mais relevantes para a simbiose



entre plantas e fungos micorrizicos arbusculares. Todas as espécies de fungos micorrizicos arbusculares são capazes de contribuir com fósforo para o seu hospedeiro, particularmente em ambientes com baixo teor em fósforo. Normalmente, os ortofosfatos do solo regulam esta simbiose micorrízica: quando há maior concentração de ortofosfato no solo a simbiose é reduzida, ao contrário, quando há falta de ortofosfato o estabelecimento da simbiose é potencializado. A micorriza arbuscular também é capaz de fornecer micronutrientes à planta e potencializar as interações com a microbiota do solo. Apesar de toda a aquisição de nutrientes, estes fungos contribuem para a saúde do solo devido ao seu potencial de fitorremediação. Em solos contaminados com metais pesados, estes fungos têm a capacidade de impedir a absorção de contaminantes pela planta, por meio do sequestro na parede celular do fungo. O estabelecimento e o resultado dessa simbiose também dependem da espécie vegetal hospedeira.

8

Table 5: Características das micorrizas arbusculares como bioindicadores da saúde do solo

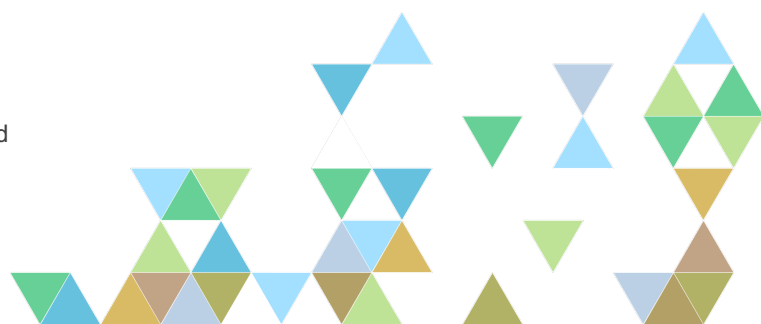
Principais atividades	Ativadores	Inibidores
Estimulação da aquisição de nutrientes (macro e micro) pela planta		
Maior resistência das plantas à seca		
Melhor desempenho fotossintético da planta	Carbono orgânico	Fósforo total
Maior área radicular	Baixa concentração de fósforo	Elevada concentração de fósforo disponível
Bioremediação	Rotação de culturas	Elevada concentração de azoto
Armazenamento de nutrientes		Elevada salinidade
Interação microbianas		Perturabação do solo
Maior resistência das plantas à doença		
Promove a formação de agregados no solo		

Carbono da biomassa microbiana

A biomassa microbiana do solo representa cerca de 5% do carbono presente no solo (Gonzalez-Quiñones et al., 2011). Este parâmetro é um proxy do tamanho da população microbiana do solo. O tipo e a quantidade de substratos orgânicos, a temperatura e a humidade são os fatores que determinam predominantemente a quantidade de biomassa microbiana no solo. Apesar dessa pequena percentagem, os microrganismos do solo são muito relevantes em vários processos fundamentais do solo, como reciclagem de nutrientes, fluxo de energia e decomposição de matéria orgânica. A biomassa microbiana também é uma fonte lábil de



This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 952051



carbono, aoto, fósforo e enxofre de forma que, quando os microrganismos morrem, os nutrientes que fazem parte da biomassa microbiana morta podem ser rapidamente convertidos em formas inorgânicas para consumo vegetal. Assim, a biomassa microbiana é um importante sumidouro de nutrientes. A biomassa microbiana pode fornecer uma indicação precoce de contaminação por metais pesados e pesticidas, uma vez que a população de microrganismos do solo é reduzida quando um desses contaminantes está presente em altas concentrações. Esta fração de carbono é particularmente dinâmica na resposta rápida a mudanças no ambiente do solo, podendo assim funcionar como um bioindicador eficaz da “saúde do solo” (Tabela 6; Joergensen e Brookes, 2005).

Table 6: Características do carbono da biomassa microbiana como bioindicador da saúde do solo

Principais funções	Bioindicador	Ativadores	Inibidores
Nutrição do solo em carbono	Tamanho da população microbiana	Matéria orgânica	Seca
	Disponibilidade de nutrientes para a atividade biológica		
Armazenamento de carbono no solo	Poluentes e metais pesados	Nutrientes em quantidades equilibradas	Salinidade
Agregação do solo	Reciclagem de nutrientes	Biomassa microbiana	Poluentes
Fontes lábeis de nutrientes	Alterações da matéria orgânica		Metais pesados
	Alterações da biologia dos solos	Humidade do solo	Pesticidas
	Seca		Escassez de nutrientes
	Salinidade		
	Qualidade e fertilidade do solo		

Desidrogenase

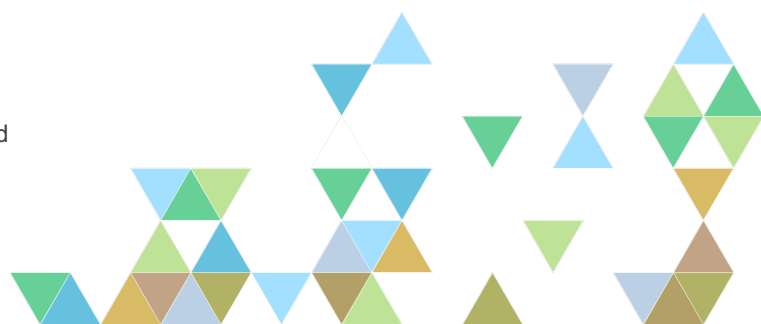
A desidrogenase é uma enzima intracelular que desempenha um papel na cadeia de respiração microbiana que pode ser usada como um bioindicador da atividade microbiana geral do solo (Piotrowska-Dlufosz e Wilczewski, 2014) e é o principal representante da classe de enzimas oxidorreductase no solo. Essa atividade enzimática está associada à oxidação biológica orgânica



do solo pela transferência de H^+ de compostos orgânicos para inorgânicos. A atividade da desidrogenase, portanto, reflete a capacidade metabólica do solo e é proporcional à biomassa microbiana ativa no solo. Portanto, a atividade da desidrogenase tem sido apontada como um bom bioindicador das atividades oxidativas microbianas do solo (Zhang et al., 2010). O estado de humidade do solo afeta a atividade microbiana do solo e, conseqüentemente, sua produção de enzimas. A atividade da desidrogenase é então influenciada pelo teor de água do solo e é reduzida quando a humidade do solo cai. Como afirmado anteriormente, existe uma forte conexão entre a atividade enzimática e o teor de matéria orgânica, e isso não é exceção para a desidrogenase. Altas quantidades e qualidade de matéria orgânica presente no solo podem fornecer substrato suficiente para suportar maior biomassa e atividade microbiana, portanto, atividade de desidrogenase. Desta forma, existe uma relação positiva entre a atividade da desidrogenase e a biomassa microbiana e a quantidade e qualidade da matéria orgânica do solo (Tabela 7). Em relação à temperatura, a atividade da desidrogenase deve ser maior na temperatura ótima para o crescimento e desenvolvimento dos microrganismos do solo. Normalmente existe uma correlação positiva entre a atividade da desidrogenase e a temperatura, até que se atinja um valor de temperatura desfavorável ao desenvolvimento microbiano e as enzimas sejam desnaturadas. A profundidade também influencia a atividade da desidrogenase, pois é na camada superficial e na rizosfera onde encontramos a biomassa microbiana mais abundante e, portanto, uma maior atividade enzimática. Em termos de fertilização, tem sido descrito por muitos autores que a fertilização orgânica tem um efeito maior no aumento da atividade enzimática do que a fertilização inorgânica, devido aos seus compostos orgânicos superiores que sabidamente afetam positivamente a atividade enzimática. Uma fertilização bem balanceada é benéfica para a atividade enzimática, como a desidrogenase. Quantidades excessivas de fertilizantes inorgânicos e pesticidas têm um forte impacto negativo na atividade da desidrogenase. A atividade da desidrogenase pode então ser um bioindicador da presença de poluente ou excesso de nutrientes no solo. O mesmo para os metais pesados, uma vez que tem efeito adverso no desenvolvimento e atividade da microbiota do solo, com conseqüências negativas para a atividade da desidrogenase.

Table 7: Características da desidrogenase como bioindicador da saúde do solo

Principal função	Bioindicador	Ativador	Inibidor
Oxidação biológica da matéria orgânica do solo	Atividade biológica do solo Qualidade e fertilidade do solo Presença de poluentes e metais pesados	Matéria orgânica Temperatura Biomassa microbiana Humidade do solo	Seca Profundidade Poluentes e metais pesados



Gestão do solo

Fertilização

A fertilização visa repor a quantidade de nutrientes no solo extraída pelas culturas. A quantidade de nutrientes disponíveis no solo pode não ser exatamente a quantidade ou o equilíbrio de nutrientes necessários para o crescimento e desenvolvimento ideal da cultura. Desta forma, a fertilização é crucial para fornecer ao solo os nutrientes necessários nas proporções certas para o alto rendimento das culturas. A adubação pode ser química (também denominada mineral, inorgânica ou sintética) ou orgânica. A adubação química contém maior concentração de nutrientes primários como N, P e K, na forma de sais inorgânicos. Elementos secundários (como Ca, Mg e S) em suas formas inorgânicas também podem ser encontrados. Macro e micronutrientes são geralmente fornecidos por diferentes combinações de sais. Em linhas gerais, os fertilizantes são extraídos das rochas por processos físicos e/ou químicos (exceto os fertilizantes nitrogenados que são sintetizados a partir do N atmosférico). No que diz respeito aos fertilizantes orgânicos, os nutrientes são derivados de materiais de origem vegetal e animal ou outros constituintes orgânicos. Os biofertilizantes, ou seja, fertilizantes à base de microrganismos, também são considerados fertilizantes orgânicos. Normalmente, este tipo de adubo tem na sua composição não só os nutrientes primários e secundários mas também os micronutrientes que as culturas necessitam para o seu desenvolvimento. Tanto os fertilizantes químicos quanto os orgânicos contribuem para uma maior produção de alimentos, essenciais para atender a uma demanda populacional crescente. Ambos os tipos de fertilizantes, por fornecerem nutrientes essenciais, podem contribuir para estimular o crescimento de microrganismos do solo, bem como suas atividades, que podem alterar a diversidade microbiana. O aumento da diversidade microbiana é crucial para a estabilidade e produtividade dos ecossistemas. Porém, devemos analisar os impactos de curto e longo prazo dos diferentes tipos de adubação na lavoura e no solo, a fim de estarmos atentos às consequências ambientais do uso de fertilizantes.

Fertilização química

O uso de fertilizantes minerais está em crescendo a nível global. Os fertilizantes minerais estão prontos para serem utilizados pelas plantas e pela biota do solo. Desta forma, em solos pouco fertilizados, a adição de fertilização química equilibrada pode melhorar o desenvolvimento do microbioma do solo e a resiliência do ecossistema e aumentar o estado de saúde do solo. Por exemplo, a adição de azoto em solos com escassez de azoto pode contribuir para aumentar a biomassa microbiana, uma vez que os microrganismos do solo podem ser limitados em azoto. Um aumento na biomassa e diversidade microbiana está relacionado com o aumento do crescimento da planta, o que resulta em maior rizodeposição, com um feedback positivo na biomassa e diversidade microbiana. No entanto, o uso excessivo de fertilizantes tem impactos ambientais negativos agudos, no que diz respeito à atmosfera, água, solo e biosfera. O principal



motivo é contribuir para o acúmulo de nutrientes no solo, já que apenas uma percentagem do total de fertilizante aplicado é consumida pela planta. Por exemplo, em relação aos fertilizantes nitrogenados apenas 50-60% do azoto aplicado é levado pelas culturas e para os fertilizantes fosfatados esse percentual é ainda menor, chegando a menos de 25%.

No que diz respeito à atmosfera, a biodegradação do fertilizante azotado acumulado no solo por microrganismos é o principal contribuinte direto da emissão de N_2O para a atmosfera, um poderoso gás com efeito estufa.

Os nutrientes do solo que não são consumidos são propensos a serem lixiviados até atingirem os corpos d'água, o que contribui para os fenômenos de eutrofização e acidificação, e também a poluição da água pelo acúmulo de xenobióticos que podem estar presentes na composição dos fertilizantes. Além disso, no solo, o uso excessivo de fertilizantes químicos tem consequências nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. A quantidade e a qualidade da matéria orgânica do solo influenciam a qualidade do solo, o que tem impactos na comunidade microbiana e na produtividade das culturas. Em solos pobres em nutrientes, a adição de fertilizantes inorgânicos pode aumentar a matéria orgânica do solo, favorecendo o desenvolvimento de culturas que contribuem para um maior acúmulo de resíduos de culturas e também a produção de mais exsudatos radiculares. No entanto, alguns estudos relataram um esgotamento da matéria orgânica do solo em solos fertilizados a longo prazo. A perda de matéria orgânica representa um impacto negativo nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, afetando a saúde e a qualidade do solo e, conseqüentemente, a produtividade das plantas. É importante reter que um manejo de adubação agrícola, onde se baseia apenas na adubação química, só adicionará nutrientes minerais ao solo, e não matéria orgânica. Sem a adição de compostos orgânicos, a produção contínua de culturas e a actividade microbiológica associada à sua produção podem degradar e esgotar os compostos de matéria orgânica presentes, que são consumidos para sustentar a produtividade do solo, a uma taxa superior à adição de matéria orgânica através das raízes exsudados e restos culturais. Porém, mesmo nos casos em que os estudos relatam um incremento de matéria orgânica por meio da adição de adubação química, esse incremento é sempre inferior ao associado à adubação orgânica. As mudanças na interação micróbio-planta também estão relacionadas com a duração da fertilização química. A matéria orgânica possui em sua composição diferentes tipos e quantidades de compostos orgânicos com diferentes graus de complexidade estrutural. A diversidade de compostos orgânicos favorece o desenvolvimento de diferentes microbiotas capazes de decompor os diferentes substratos orgânicos disponíveis, contribuindo para uma diversificada comunidade microbiana do solo. Um manejo agrícola que dependa apenas da adubação química não aumentará a diversidade da comunidade microbiana, pois os insumos recebidos são apenas os mesmos compostos minerais, com menor diversidade entre eles. Como consequência, o microbioma do solo mais adaptado a essas condições de alto teor de nutrientes levará ao esgotamento das fontes de carbono mais lábeis e à não utilização de outros compostos orgânicos mais complexos. Para apoiar esta teoria, verificou-se que em solos adubados quimicamente há uma redução na abundância de genes



funcionais microbianos, como os responsáveis pela ciclagem de carbono, especialmente aqueles relacionados com a ciclagem de frações de carbono recalcitrantes, reduzindo assim a taxa de renovação da matéria orgânica do solo. Desta forma, a fertilização química de longo prazo pode impactar negativamente a eficiência do microbioma do solo na degradação do carbono recalcitrante. Em resumo, em condições de alto teor de nutrientes, há uma heterogeneidade reduzida de nutrientes disponíveis fazendo com que menos espécies possam se desenvolver devido à ausência de substratos mais diversos. O pequeno número de espécies que podem se adaptar a essas novas condições reduzirá a riqueza de espécies.

Para apoiar esta teoria, verificou-se que em solos adubados quimicamente há uma redução na abundância de genes funcionais microbianos, como os responsáveis pela ciclagem do CARBONO, especialmente aqueles relacionados com a ciclagem de frações recalcitrantes do CARBONO, reduzindo assim a taxa de renovação da matéria orgânica do solo. Desta forma, a fertilização química de longo prazo pode impactar negativamente a eficiência do microbioma do solo na degradação recalcitrante do CARBONO. Em resumo, em condições de alto teor de nutrientes, há uma heterogeneidade reduzida de nutrientes disponíveis fazendo com que menos espécies possam se desenvolver devido à ausência de substratos mais diversos. O pequeno número de espécies que podem se adaptar a essas novas condições reduzirá a riqueza de espécies devido a uma vantagem competitiva, reduzindo a diversidade. A longo prazo, a menor heterogeneidade dos nutrientes disponíveis também reduzirá o número de espécies de plantas, tendo impacto também na comunidade microbiana: diferentes plantas liberam diferentes tipos e quantidades de exsudatos radiculares que influenciarão a comunidade microbiana na rizosfera. Devido a todas essas consequências, podemos supor também que a fertilização química a longo prazo enfraquece a relação entre plantas e microorganismos. Por exemplo, estudos mostraram que os rizóbios são menos propensos a contribuir para o crescimento das plantas em solos fertilizados com alto teor de N. Essa menor diversidade pode ser ilustrada pelo não desenvolvimento de bactérias e fungos cruciais que são responsáveis por importantes processos do solo, como interações de fixação de N com plantas, nitrificação e outros. Também podemos supor que a fertilização química de longo prazo afeta negativamente importantes funções do solo, como ciclagem de carbono recalcitrante, fixação de N e desnitrificação. Com relação à acidez do solo, o uso excessivo de adubação química diminui o pH do solo. A diminuição do pH é principalmente impulsionada pela fertilização de N contendo N-amônia. A fertilização com N pode causar acidificação do solo de várias formas, mas a principal é quando o N-amoníaco sofre nitrificação (conversão de amônia em nitrato pelas bactérias do solo) que libera íons H^+ , aumentando a acidez do solo. A maior quantidade de H^+ no solo leva à solubilização de minerais que em grandes quantidades podem ser tóxicos para as plantas e para a microbiota, como o alumínio (Al) e o manganês (Mg). Este mineral tóxico quando entra na solução do solo, interfere no desenvolvimento da planta e inibe a absorção de outros nutrientes essenciais como cálcio (Ca) e fósforo (P). Desta forma, a acidez reduz a



disponibilidade de nutrientes essenciais para a planta e o microbioma e aumenta a toxicidade na planta e no ecossistema do solo. Além disso, o pH é um dos principais determinantes da estrutura da comunidade de microrganismos do solo. O pH ideal para a maioria das bactérias benéficas do solo está em torno do pH neutro (5-5-6,5). Desta forma, um baixo pH impulsionado pela aplicação de fertilizantes pode afetar o desenvolvimento e a eficiência da microbiota do solo no desenvolvimento de suas funções do solo. Da mesma forma, o desenvolvimento das plantas também é afetado pelo baixo pH do solo, já que a maioria das lavouras tem um melhor desenvolvimento em valores de pH próximos ao neutro. Desta forma, a redução do pH do solo pode contribuir para a diminuição da biomassa de microrganismos que impactam funções essenciais do solo.

Em relação à desidrogenase, observou-se que a atividade desta enzima intracelular é reduzida em solos que receberam altas quantidades de adubação NPK, o que sugere que quantidades excessivas de fertilizante mineral diminuem a atividade microbiana do solo. No entanto, é importante ressaltar novamente que um manejo bem balanceado da fertilização pode de fato aumentar a atividade dessa enzima, ou seja, a atividade microbiana do solo. No entanto, o incremento de desidrogenase foi sempre maior nos tratamentos de fertilização orgânica com carbono em comparação com a fertilização inorgânica com carbono. As atividades enzimáticas extracelulares são algo complexas devido ao fato de que suas atividades são reguladas por um balanço nutricional estequiometricamente entre os diferentes nutrientes necessários. Normalmente, as enzimas são inibidas por seus produtos finais e são estimuladas pela entrada de matéria orgânica. Assim, geralmente podemos supor que há uma menor atividade enzimática extracelular em campos de fertilização química de longo prazo do que em solos fertilizados com orgânico. Mas, no entanto, espera-se, por exemplo, um aumento nas atividades de fosfatase quando altas concentrações de nitrogênio são adicionadas ao solo, a fim de manter o equilíbrio nutricional do solo. As micorrizas são afetadas negativamente pela abundância de nutrientes disponíveis, especialmente P e. Desta forma, espera-se que solos altamente fertilizados tenham menor abundância de micorrizas. Podemos concluir, portanto, que a fertilização química pode ter efeitos positivos no solo e na produção agrícola. No entanto, seu uso intensivo a longo prazo pode impactar negativamente as propriedades e funcionalidades do solo, o que pode contribuir para uma menor saúde e fertilidade do solo.

Fertilização orgânica

Os fertilizantes orgânicos de carbono mais comumente usados são esterco animal, biossólidos municipais, resíduos de colheitas, composto e digerido. Devido à adição de maior quantidade de matéria orgânica pela aplicação de fertilizantes orgânicos à base de carbono orgânico, tem consequências positivas a nível físico, químico e biológico, melhorando a qualidade do solo e favorecendo a produtividade das culturas. Altas quantidades de carbono orgânico impactam positivamente a estrutura do solo favorecendo a capacidade de retenção de água do solo. A



aplicação de corretivos de orgânico também pode impactar o pH do solo, mas depende do corretivo utilizado. Os compostos de matéria orgânica também são uma fonte de microorganismos. Ao servir de substrato para o desenvolvimento de microrganismos, uma maior quantidade de matéria orgânica contribui também para o desenvolvimento de uma maior biomassa microbiana, os condutores das funções biológicas do solo. A alta quantidade e diversidade de compostos presentes no fertilizante orgânico de carbono adicionado favorece o desenvolvimento de diferentes microorganismos com potenciais funções positivas no solo: degradação de carbono orgânico recalcitrante CARBONO, solubilização de nutrientes, produção de antibióticos, etc. é percebido como um bom indicador de uma boa qualidade do solo. Além disso, é importante ressaltar que devido à grande diversidade de compostos que podemos encontrar nos adubos orgânicos de carbono ele irá agregar nutrientes que não são encontrados na adubação química, como micronutrientes, que são cruciais para um bom desenvolvimento da lavoura. Uma das características das emendas orgânicas de carbono é que ele tem uma liberação lenta de nutrientes para o solo. Isso acontece porque os compostos orgânicos de carbono têm que ser primeiro decompostos pela ação microbiana para liberar os nutrientes disponíveis, sendo essa decomposição mais rápida ou lenta dependendo da complexidade de sua estrutura. A liberação lenta de nutrientes tem lados positivos e negativos: a liberação gradual de macro e micronutrientes pode manter um equilíbrio adequado de nutrientes para um bom desenvolvimento da cultura, evitando perdas de nutrientes disponíveis para os corpos d'água, mas também a necessidade de nutrientes disponíveis para as culturas pode ser maior do que o necessário taxa de liberação de nutrientes. Comparando com a adubação química, a adubação orgânica geralmente melhora mais a estrutura do solo, a quantidade e qualidade da matéria orgânica do solo, aumenta a comunidade de biomassa microbiana e a funcionalidade do solo. Devido à maior abundância de fontes de carbono, geralmente os tratamentos com fertilizantes orgânicos de carbono aumentam as atividades enzimáticas extracelulares do solo associadas ao ciclo do carbono, como β -glucosidase e N-acetilglucosaminidase. A adição de compostos orgânicos de carbono ricos em orgânico P, como esterco, geralmente está associada ao aumento da atividade da fosfatase. Assim, comparando com a adubação química, o manejo do orgânico de carbono é capaz de aumentar mais o teor de carbono total do solo e os substratos enzimáticos do orgânico de carbono que por sua vez podem ser revelados em maior atividade hidrolítica relacionada à ciclagem de C, N e P. Comparando-se a adubação orgânica com a adubação química, entendeu-se que há arbuscular uma maior taxa de infecção micorrízica nos solos manejados orgânico de carbono do que nos que receberam adubação química. As plantas em manejo de adubação orgânica geralmente apresentam maior dependência da infecção por micorrizas do que as plantas dos tratamentos químicos. Uma das principais explicações é que não apenas um maior teor de matéria orgânica em carbono beneficia o desenvolvimento das micorrizas, mas também a menor quantidade de nutrientes disponíveis no solo fertilizado com carbono orgânico torna as plantas e as micorrizas mais propensas ao estabelecimento da relação de simbiose. No entanto, em algumas situações não é razoável usar apenas adubação orgânica



para sustentar a produção das plantas, uma vez que não fornecem grandes quantidades de NPK prontamente disponíveis, deve-se buscar um manejo agrícola integrado bem balanceado com adubação orgânica e química. De facto, muitas vezes foi descoberto que a combinação de ambos os tipos de fertilização está associada ao aumento da matéria orgânica do solo, redução da acidificação, melhoria da capacidade de retenção de água, resistência e compactação do solo.

Bioindicadores	Fertilização química	Fertilização orgânica	Fertilização mista
Atividade das enzimas extracelulares	⬇️	⬆️	⬆️
Micorrizas arbusculares	⬇️	⬆️	⬆️
Carbono da biomassa microbiana	⬇️	⬆️	⬆️
Desidrogenase	⬇️	⬆️	⬆️
Disponibilidade de nutrientes	⬆️	⬇️	⬆️
Produtividade	⬆️	⬇️	⬆️

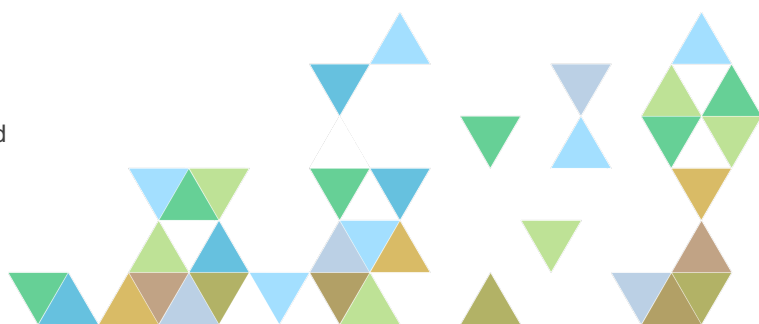
16

Mobilização do solo

A mobilização do solo é definida como a sua preparação por meio de perturbações mecânicas que podem ser de tipos distintos, mas que sempre causam grande impacto nas propriedades do solo. Os agricultores geralmente cultivam o solo para evitar a compactação do solo e má drenagem e aeração. No entanto, esta prática tem consequências negativas para o solo a curto e longo prazo, a nível físico, químico e biológico. O preparo do solo acelera os processos de decomposição do carbono orgânico e liberação do carbono por oxidação. Além disso, a maior

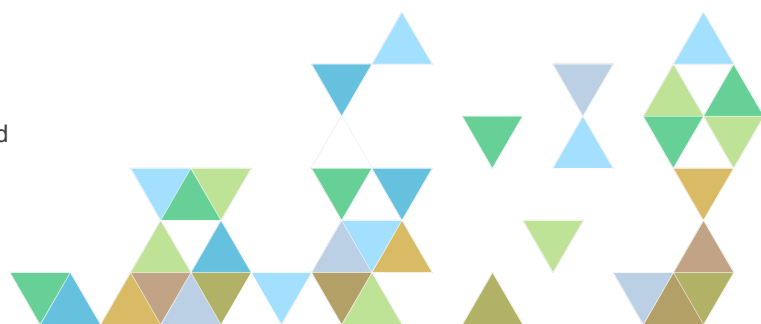


This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 952051



parte da matéria orgânica do solo e as atividades de biodegradação biológica do solo estão nos primeiros centímetros do solo. Espera-se então que menos conteúdo de carbono orgânico afete negativamente a comunidade e atividade da biomassa microbiana. Apesar disso, a prática do preparo do solo também pode alterar a localização da matéria orgânica do solo e, conseqüentemente, a estrutura do solo. Relata-se que o plantio direto ou plantio conservador é capaz de diminuir 3 °C da temperatura da camada superficial do solo quando comparado com a camada superficial de um solo cultivado. Além disso, o plantio direto está associado a uma maior capacidade de retenção de água no solo, reduzindo assim a aeração do solo. Nos climas mediterrâneos, caracterizados pelos verões secos e quentes, os efeitos do plantio direto têm grande impacto na produtividade biológica do solo, pois a manutenção de temperaturas mais baixas na camada superficial do solo e uma maior capacidade de retenção de água contribuem para uma maior atividade biológica. Na verdade, é comumente observado que uma maior atividade de desidrogenase geralmente está associada a sistemas de solo de plantio direto. No que diz respeito às micorrizas, apesar das alterações na estrutura do solo e no teor de matéria orgânica, é fácil compreender como a intervenção mecânica do solo pode danificar a estrutura dos micélios dos fungos das micorrizas. A rutura do micélio tem conseqüências ao nível do desenvolvimento da micorriza e na simbiose entre a planta e os fungos, com impacto negativo para o ecossistema do solo. Devido ao impacto sobre as micorrizas, o preparo do solo muitas vezes afeta a absorção de P pela planta e também a estabilidade da agregação do solo, uma função importante impulsionada pelas micorrizas. Desta forma, o preparo do solo por afetar a matéria orgânica, a biomassa microbiana e as micorrizas reduzirá direta e indiretamente as atividades das enzimas extracelulares produzidas principalmente pelos microrganismos do solo e relacionadas com a quantidade e qualidade da matéria orgânica do solo.

Bioindicadores	Mobilização do solo	Sem ou pouca mobilização
Atividade das enzimas extracelulares	⬇️	⬆️
Micorrizas arbusculares	⬇️	⬆️
Carbono da biomassa microbiana	⬇️	⬆️
Desidrogenase	⬇️	⬆️





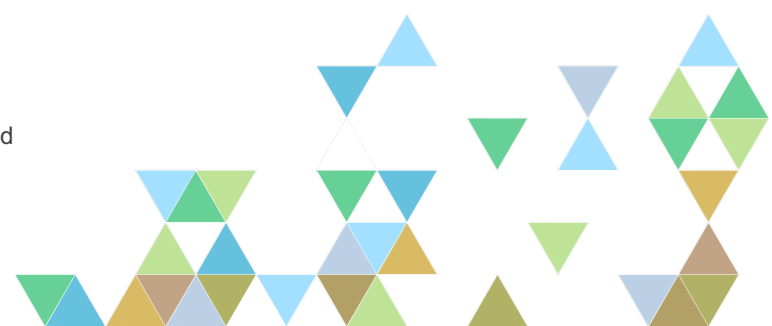
Cobertura orgânica do solo

A cobertura orgânica do solo é a prática de aplicação de cobertura morta para cobrir a superfície do solo, que visa aumentar a conservação da água, aumentando a infiltração de água, retardando a erosão do solo e reduzindo o escoamento superficial. Essa prática também controla a temperatura do solo, a umidade do solo e reduz a evaporação do solo. O material de cobertura morta pode ser orgânico ou inorgânico. A cobertura morta tem a vantagem de incorporar matéria orgânica no solo, mas também pode ser uma fonte de sementes indesejadas que podem se desenvolver como ervas daninhas. A cobertura morta de carbono inorgânico (geralmente de origem plástica) pode ter uma melhor eficiência na redução da evaporação e no controle da umidade do solo, mas, a longo prazo, pode levar à poluição do solo por plástico e outros contaminantes. Devido aos seus impactos benéficos na estrutura do solo, foi relatado que a cobertura morta aumenta a biomassa microbiana e, conseqüentemente, a melhoria dos serviços positivos do solo direcionados aos microrganismos do solo, como mineralização de nutrientes, maior eficiência na degradação de matéria orgânica, etc. Isso pode ser explicado por a melhoria da disponibilidade de carbono e água para os microrganismos. Pelas mesmas razões, as condições mais adequadas fornecidas pela cobertura morta, e o maior teor de carbono pela cobertura orgânica de carbono, também devem aumentar as atividades de enzimas como desidrogenase e as atividades enzimáticas extracelulares relacionadas com a ciclagem de carbono, azoto e fósforo e potencialmente beneficiar desenvolvimento de micorrizas.

Bioindicadores	Solo nú	Solo coberto
Atividade das enzimas extracelulares	⬇️	⬆️
Micorrizas arbusculares	⬇️	⬆️
Carbono da biomassa microbiana	⬇️	⬆️
Desidrogenase	⬇️	⬆️

Rotação de culturas

A rotação de culturas é a prática de plantar diferentes culturas sequencialmente na mesma parcela. Essa técnica tem como função contribuir para a saúde do solo, por meio do aumento



da diversidade da comunidade microbiana do solo, otimizando os nutrientes do solo e combatendo a propagação de pragas e ervas daninhas. Como já foi dito, uma maior diversidade de culturas produzirá diferentes tipos de exsudatos radiculares e resíduos de culturas que, por sua vez, recrutarão e aumentarão o desenvolvimento de uma maior diversidade de microrganismos com diferentes funções potenciais no solo, como mineralização de nutrientes, produção de antibióticos etc. Desta forma, será mais difícil o surgimento de pragas potenciais, pois a probabilidade de haver um microrganismo que produza um antibiótico eficaz para uma determinada praga é maior em ambientes com maior diversidade de microrganismos funcionais. Além disso, os microrganismos mais diversos também potencialmente produzirão diferentes tipos de enzimas que são capazes de catalisar a degradação de diferentes fontes de carbono, que podem disponibilizar outros tipos de nutrientes para plantas e desenvolvimento microbiano, enquanto economizam fontes de carbono mais lábeis. Uma comunidade microbiana do solo mais diversa está diretamente relacionada com uma maior saúde do solo.

19

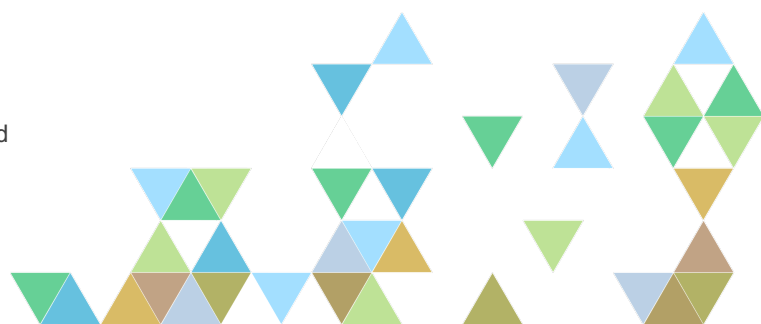
Bioindicadores	Monocultura	Rotação de culturas
Atividade das enzimas extracelulares	⬇️	⬆️
Micorrizas arbusculares	⬇️	⬆️
Carbono da biomassa microbiana	⬇️	⬆️
Desidrogenase	⬇️	⬆️

Conclusões

É claro que a chamada agricultura convencional teve grandes benefícios no aumento do rendimento das culturas para fornecer os alimentos necessários para a crescente população humana. No entanto, os meios utilizados para alcançar essa eficácia na produção de alimentos também afetaram as interações ecossistêmicas entre plantas-micróbios e micróbios-micróbios, com consequências negativas para o ambiente do solo a longo prazo, tornando os solos menos viáveis para a produção de alimentos no presente e futuro. Se queremos sistemas agrícolas sustentáveis, é obrigatório preservar e potencializar esses tipos de interações, pois são eles os



This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 952051



responsáveis pelo desencadeamento de processos e funções essenciais do solo que mantêm um ecossistema bem equilibrado. Desta forma, temos que olhar para o solo com uma abordagem holística onde os fatores físicos, químicos e biológicos são contemplados. Os bioindicadores do solo podem ser uma ferramenta útil para avaliar a parte biológica do solo, os principais impulsionadores dos processos do solo, a fim de nos ajudar a fazer uma ilustração do estado de saúde do solo e nos orientar em futuras decisões de manejo agrícola para garantir a sustentabilidade do sistema de solo

Referências

Acosta-Martinez, V., & Tabatabai, M. A. (2000). Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biology and Fertility of soils*, 31(1), 85-91.

de Almeida, R. F., Naves, E. R., & da Mota, R. P. (2015). Soil quality: Enzymatic activity of soil β -glucosidase. *Global Journal of Agricultural Research and Reviews*, 3(2), 146-150.

Mori, T., Aoyagi, R., Kitayama, K., & Mo, J. (2021). Does the ratio of β -1, 4-glucosidase to β -1, 4-N-acetylglucosaminidase indicate the relative resource allocation of soil microbes to CARBONO and N acquisition?. *Soil Biology and Biochemistry*, 160, 108363.

Stott, D. E., Andrews, S. S., Liebig, M. A., Wienhold, B. J., & Karlen, D. L. (2010). Evaluation of β -glucosidase activity as a soil quality indicator for the soil management assessment framework. *Soil Science Society of America Journal*, 74(1), 107-119.

Wang, Z., Wang, S., Bian, T., Song, Q., Wu, G., Awais, M., ... & Sun, Z. (2022). Effects of Nitrogen Addition on Soil Microbial Functional Diversity and Extracellular Enzyme Activities in Greenhouse Cucumber Cultivation. *Agriculture*, 12(9), 1366.

Ueno, H., Miyashita, K., Sawada, Y., & Oba, Y. (1991). Assay of chitinase and N-acetylglucosaminidase activity in forest soils with 4-methylumbelliferyl derivatives. *Zeitschrift für Pfla*

