



Atividade das fosfatases em Neossolo Quartzarênico com adição de 12 biocarvões⁽¹⁾.

Heiriane Martins Sousa⁽²⁾; Alicia B. Speratti⁽³⁾; Flávia Carolina R. Locatelli⁽⁴⁾; Giselle de Araújo Ferreira⁽⁴⁾; Daniela T. Silva Campos⁽⁵⁾; Eduardo Guimaraes Couto⁽⁵⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Universidade Federal de Mato Grosso.

⁽²⁾ Doutoranda no programa de pós-graduação em Agricultura Tropical (PPGAT), Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEVZ), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, e-mail: heirianemartins@hotmail.com.br; ⁽³⁾ Doutoranda no programa de Pós-Graduação em Resource Management and Environmental Studies na University of British Columbia (UBC); ⁽⁴⁾ Graduandas em Agronomia-FAMEVZ-UFMT; ⁽⁵⁾ Professores e pesquisadores no PPGAT-FAMEVZ-UFMT.

RESUMO: O biocarvão é um carvão vegetal oriundo de resíduo animal ou vegetal, aquecidos sob pirólise, quando aplicado no solo, é capaz de reter água e nutrientes, aumentar o carbono orgânico dissolvido e ativar a microbiota do solo. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da aplicação de 12 materiais de biocarvão em Neossolo Quartzarênico sob a atividade das fosfates ácida e alcalina. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em vasos com solo e 5% (peso de solo) de biocarvão. Utilizaram-se 12 biocarvões, oriundos de quatro matérias primas (dejeito de suínos, capulho de algodão, cavaco do eucalipto e torta de filtro de cana-de-açúcar) sob três temperaturas de pirólise (400°, 500° e 600°C), conduzido em esquema fatorial 4x3 + controle x 4 blocos, totalizando 52 parcelas, com plantio de milho, conduzido por 42 dias. O solo foi coletado e determinado a produção das enzimas fosfatases ácida e alcalina, por meio da determinação do *p*-nitrofenol produzido. Nos resultados da fosfatase alcalina, houve diferença estatística entre os materiais de biocarvão, os biocarvões de eucalipto e torta apresentaram maior atividade dessa enzima. A atividade da fosfatase ácida decresceu com a adição de biocarvão de dejeito suíno e algodão. Os resultados sugerem que o poder tampão exercido pelos biocarvões na fosfatase ácida foi reduzida com a adição de biocarvão, acreditamos que esse resultado possa ter sido subestimado, e as metodologias tradicionais precisam de adaptações.

Termos de indexação: Biochar, atividade enzimática do solo, sustentabilidade do solo.

INTRODUÇÃO

O biocarvão (biochar) é um carvão vegetal derivado de biomassa de resíduos (vegetais e animais), aquecido em altas temperaturas em um compartimento fechado com pouco ou nenhum suprimento de oxigênio, processo esse denominado pirólise (Lehmann & Joseph, 2009).

O biocarvão quando aplicado no solo possui propriedades de: melhorar a saúde do solo, com a retenção de água e nutrientes, aumentar a estabilidade do carbono orgânico do solo (COS) (Lehmann, 2007) e ativar a microbiota do solo, melhorando a resistência das plantas a estresses, como o hídrico (Liang et al., 2014). Porém, essas características são variáveis de acordo com a matéria prima e temperatura de pirólise do biocarvão e bem como, o tipo de solo em que será aplicado.

Em Neossolos Quartzarênicos que possuem uma fertilidade natural baixa, pois o mineral da fração areia é o quartzo, um mineral extremamente resistente ao intemperismo e desprovido de nutrientes e cargas (Frazão et al., 2008), o biocarvão possui um enorme potencial em melhorar a fertilidade desse solo, a retenção de água e a atividade microbiana.

A atividade da microbiota pode ser avaliada pela produção de enzimas, as fosfatases, por exemplo, são responsáveis pela catalise da hidrólise de fosfomonoésteres orgânicos de fósforo inorgânico. Sua classificação é feita de acordo com o pH ótimo de ação, nomeadas como fosfatases ácidas, neutras e alcalinas (Alef & Nannipieri, 1995), com destaque a primeira e a última por serem produzidas por micro-organismos do solo.

A fosfatase ácida é responsável pela liberação do ânion PO₄, que atua na mineralização de ésteres e anidridos de ácido fosfórico, responsável em parte no ciclo do fósforo no solo (Lisboa et al., 2012).

A fosfatase alcalina é sintetizada apenas por microrganismos, com atividade predominante em solos alcalinos diferentemente da fosfatase ácida que prevalece em solos ácidos (Eivazi & Tabatabai, 1977), porém, a fosfatase alcalina é mais estável a alterações de pH e temperatura, quando comparada com a fosfatase ácida (Li et al., 2006). Ela atua na desfosforilação, que remove grupos fosfatos. Em geral catalisam a hidrólise de compostos fosfatados orgânicos, produzindo fósforo solúvel no solo (Alef & Nannipieri, 1995).



Contudo, tanto a fosfatase ácida como a alcalina desempenham papel importante na nutrição de plantas. E o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da aplicação de 12 materiais de biocarvão em Neossolo Quartzarênico na atividade das fosfates ácida e alcalina num solo arenoso cultivado com milho.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada com experimento sob casa de vegetação. O solo utilizado foi coletado de Neossolos Quartzarênicos em talhões comerciais, com histórico de uso conhecido. Caracterizado de textura arenosa (91% areia, 4% silte, 5% argila), pH 5,8, CTC 5,3 $\text{cmolc}^{-1}\text{dm}^3$, teores de 0,002% de N e 0,7% C, e densidade aparente de 1,6 g^{-1}cm^3 , localizado no município de Campo Verde-MT.

O biocarvão utilizado foi produzido por meio de um biorreator comercial, a partir de quatro fontes de matéria prima (dejeito de suínos, capulho do algodão, cavaco do eucalipto e torta do filtro da cana-de-açúcar) e sob três temperaturas de pirólise (400°, 500° e 600°C), totalizando 12 diferentes materiais de biocarvão.

Tratamentos e amostragens

O experimento foi conduzido em casa de vegetação provida de sistema automático de resfriamento Pad Argila, com temperatura regulada para $28 \pm 2^\circ\text{C}$. O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3+controle (sem biocarvão), com quatro repetições, sendo os fatores avaliados: quatro tipos de biocarvão (dejeito de suínos, capulho de algodão, cavaco de eucalipto e torta de filtro de cana-de-açúcar) e três temperaturas de pirólise (400°, 500° e 600°C), totalizando 52 parcelas (vasos).

Cada parcela foi constituída de um vaso, preparado com 8 kg de solo mais a adição de 400 g de biocarvão, correspondente a 5% do peso do solo, com posterior homogeneização, exceto os controles que não receberam adição de biocarvão.

Em cada vaso, foram semeadas quatro sementes de milho híbrido (DKB 390 VT PRO2), e conduzidas sob mesma adubação em todos os tratamentos de 150 Kg 12-46-0 NPK + 7% S ha^{-1} aplicados no plantio, 150 kg KCl ha^{-1} e 200 kg ureia ha^{-1} aplicados em cobertura 20 dias após o plantio (sendo a ureia aplicada em fracionamento aos 20 e 30 dias após plantio), calculados nessa proporção para a quantidade de 8 kg de solo. O milho (*Zea mays*) foi conduzido por um período de 42 dias, com irrigação calculada para a capacidade de campo, aplicada uma vez por semana durante os primeiros 20 dias e após isso duas vezes por semana. Ao final, o solo foi peneirado (peneira de 2 mm) e homogeneizado,

com posterior coleta para quantificação das enzimas fosfatases ácida e alcalina.

A atividade das fosfatases foi seguida de acordo com o método descrito em Tabatabai (1994), baseada na determinação colorimétrica do *p*-nitrofenol, produzido, quando o solo é incubado (1 hora) com o substrato PNP (*p*-nitrophenyl phosphate), mantido em pH ótimo de ação, sendo pH 6,5 para fosfatase ácida e pH 11 para fosfatase alcalina.

O cálculo foi estimado com base em uma curva padrão com concentração (ppm) conhecida, e determinado em μg de *p*-nitrofenol produzido por hora por grama de solo seco (μg *p*-nitrofenol h^{-1} g solo seco $^{-1}$) conforme descrito em Tabatabai (1994).

Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov. Ao apresentarem distribuição normal seguiu-se à análise de variância (ANOVA), com médias dos tratamentos (exceto controle) comparadas por meio do teste de Scott Knott em esquema fatorial 3x4, e médias dos tratamentos comparadas com o controle pelo teste Dunnet, ao nível de significância $< 0,05\%$, para ambos os testes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de variância, os tratamentos (exceto o controle) comparados em esquema fatorial 4x3 (4 matérias primas e 3 pirólises), não apresentaram diferenças estatísticas para a pirólise e bem como não teve interação com o material. Porém houve diferenças entre os materiais sobre a atividade das fosfatases alcalina e ácida (Figura 1 e 2).

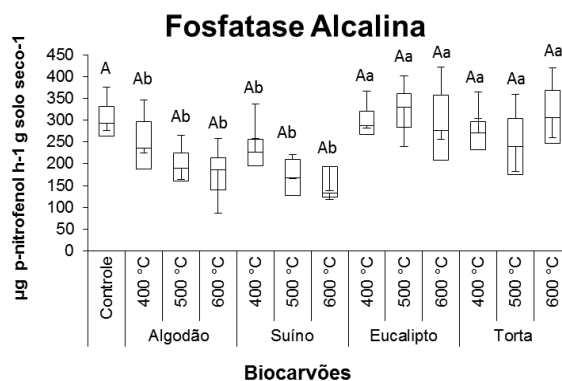


Figura 1 – Produção da fosfatase alcalina em um Neossolo Quartzarênico com adição de diferentes tipos de biocarvão, sob cultivo de milho, expressa em μg *p*-nitrofenol h^{-1} g solo seco $^{-1}$. Letras iguais maiúsculas não diferem os tratamentos com biocarvão do controle pelo teste Dunnet ($p < 0,01\%$) e letras iguais minúsculas não diferem entre os biocarvões pelo teste Scott-Knott ($p < 0,01\%$).



Na fosfatase alcalina, não houve diferença dos tratamentos com adição de biocarvão quando comparado com o controle pelo teste Dunnet, diferentemente da fosfatase ácida (**Figura 1 e 2**).

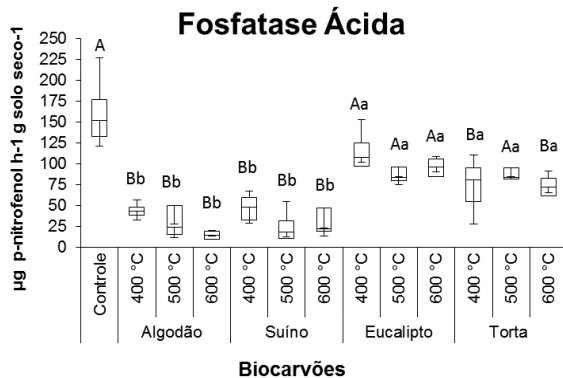


Figura 2 – Produção da fosfatase ácida em um Neossolo Quartzarênico com adição de diferentes tipos de biocarvão, sob cultivo de milho, expressa em $\mu\text{g p-nitrofenol h}^{-1} \text{g solo seco}^{-1}$. Letras iguais maiúsculas não diferem os tratamentos com biocarvão do controle pelo teste Dunnet ($p < 0,01\%$) e letras iguais minúsculas não diferem entre os biocarvões pelo teste Scott-Knott ($p < 0,01\%$).

Os biocarvões utilizados não afetaram a produção da fosfatase alcalina, quando comparada com o controle. Esse resultado pode estar atribuído ao pH alcalino do material, que pode ter favorecido a produção da mesma. Em geral os biocarvões possuem como características serem materiais alcalinos, assim como verificado no estudo de Eykelbosh et al. (2014) trabalhando com biocarvão de torta filtro da cana-de-açúcar, pirrolisado a 575°C , identificou pH $9,85 \pm 0,08$.

Neste trabalho o pH do biocarvão de torta do filtro da cana-de-açúcar apresentou pH 8,77 na pirólise de 500°C , e diferentes pH foram obtidos entre os materiais, os biocarvões mais alcalinos foram o de algodão e dejetos suíno (**Figura 3**).

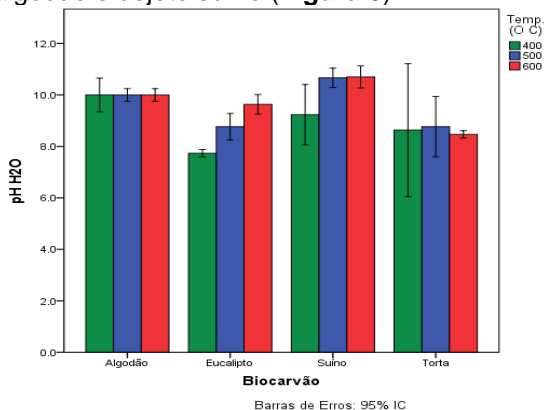


Figura 3 – Valores médios do pH dos biocarvões em diferentes temperaturas de pirólise.

Os biocarvões de algodão e suíno apresentaram baixa produção da fosfatase ácida com relação ao controle e os biocarvões de eucalipto e torta. Esse resultado pode ser explicado pelos maiores valores de pH dos biocarvões de algodão e suíno.

A fosfatase ácida pode ter sido subestimada nos biocarvões de capulho do algodão e dejetos suíno. O que não aconteceu para os biocarvões de cavaco de eucalipto e torta, não diferindo do controle, com exceção da torta 400°C e 600°C .

Jindo et al. (2014) em seu estudo sobre a interferência do biocarvão nas metodologias de determinação de enzimas extracelulares, verificou a retenção de até 30% do *p*-nitrofenol na fosfatase ácida, utilizando biocarvão de madeira (*Quercus serrata*) produzido a 550°C .

Um aumento na quantidade de íons de OH em solução alcalina reduz a difusão de íons de fenol, devido a uma repulsão eletrostática de carga negativa do solvente e íons fenólicos. Como o pH aumenta, a superfície da carga pirogênica dos materiais de biocarvão torna-se negativa e diminui a sua capacidade de sorção (Beker et al., 2010).

Neste contexto, para enzimas que exigem pH alcalino, o biocarvão teria pouco efeito sobre método de análise, não havendo necessidade de adaptações. Diferentemente da fosfatase ácida, onde o aumento do poder de sorção do biocarvão pode estar retendo o fenol, subestimando o *p*-nitrofenol produzido.

A temperatura de pirólise só influenciou os resultados das fosfatases, quando se incluiu os resultados do controle (**Figura 4**).

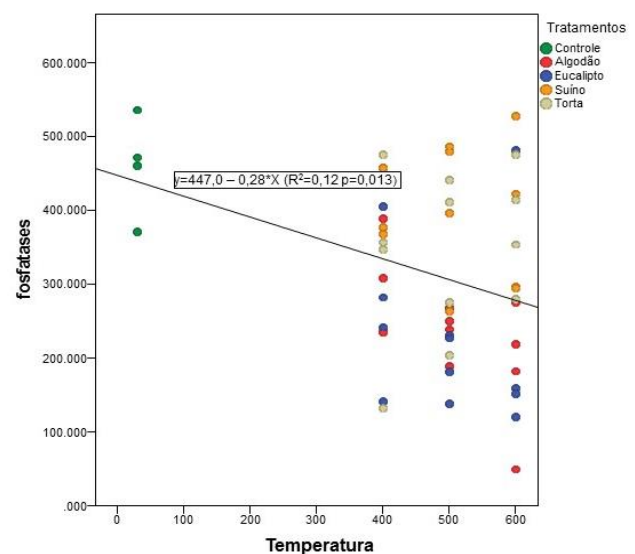


Figura 4 - Relação entre a temperatura e atividade das fosfatases (alcalina + ácida).



Em geral à medida que aumentou a temperatura de pirólise diminuiu a produção das fosfatases.

Quando comparamos as duas enzimas, excluindo o efeito do biocarvão, isto é, analisando a atividade das fosfatases somente nos tratamentos controles (sem adição de biocarvão), pode-se observar que a fosfatase alcalina é produzida em maior quantidade que a fosfatase ácida no Neossolo Quartzarênico.

Nesse sentido o pH do solo atua como um dos reguladores da atividade enzimática do solo (Tabatabai, 1994), porém, isso vai depender dos grupos de microrganismos existentes, quer sejam fungos, bactérias ou arqueas.

O valor médio do pH no controle foi de 5,1. Este valor de pH favorece, em princípio, a atividade da fosfatase ácida (Alef e Nannipieri, 1995). Porém, ocorreu o inverso, houve maior atividade da fosfatase alcalina (média de 301,99 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol h}^{-1} \text{ g solo seco}^{-1}$ no controle) que a ácida (média de 157,86 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol h}^{-1} \text{ g solo seco}^{-1}$ no controle), o que pode ter sido influenciado pelos grupos funcionais de microrganismos naturalmente existentes nesse solo. A continuidade do estudo com uso de ferramentas da biologia molecular deverá ajudar a responder essas e outras questões relacionadas ao efeito do biocarvão na microbiota do solo.

CONCLUSÕES

A atividade da fosfatase alcalina não foi inibida pela adição de biocarvão no solo. Os biocarvões de eucalipto e torta do filtro da cana-de-açúcar, independente da temperatura de pirólise, favoreceram a produção dessa enzima quando comparado com os biocarvões de dejetos suíno e capulho do algodão.

A atividade da fosfatase ácida foi reduzida com a adição de biocarvão de dejetos suíno e algodão.

Os resultados da fosfatase ácida podem ter sido subestimados, as metodologias tradicionais de determinação do *p*-nitrofenol em pH ácido, precisam de adaptações para análises com biocarvão.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao apoio técnico dos estudantes de graduação em Agronomia: Vândir Moraes Soares, Edmar S. de Queiroz, André Luiz de F. Espinoza e Andrei Pereira Oliveira, na instalação e condução desse experimento.

REFERÊNCIAS

ALEF, K. & NANNIPIERI, P. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London: Academic Press, 1995. 576p.

BEKER, U.; GANBOLD, B.; DERTLI, H.; et al. Adsorption of phenol by activated carbon: influence of activation methods and solution pH. *Energy Conversion and Management*, 51:235–240, 2010.

EIVAZI, F. & TABATABAI, M. A. Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 9:167-172, 1977.

ELAD, Y.; CYTRYN, E.; MELLER HAREL Y.; et al. The biochar effect: Plant resistance to biotic stresses. *Phytopathologia Mediterranea*, 50:335-349, 2011.

EYKELBOSH, A.J.; JOHNSON, M.S. QUEIROZ, E.S.; et al. Biochar from sugarcane filtercake reduces soil CO₂ emissions relative to raw residue and improves water retention and nutrient availability in a highly-weathered tropical soil. *Plos One*, 9(6): e98523. doi:10.1371/journal.pone.0098523, 2014.

FRAZÃO, L.A.; PÍCCOLO, M.C.; FEIGL, B.J.; et al. Propriedades químicas de um Neossolo Quartzarênico sob diferentes sistemas de manejo no Cerrado mato-grossense. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43:641-648, 2008.

JINDO, K.; MATSUMOTO, K.; GARCÍA IZQUIERDO, C.; et al. Methodological interference of biochar in the determination of extracellular enzyme activities in composting samples. *Solid Earth*, 5:713–719, 2014.

LEHMANN, J. & JOSEPH, S. Biochar for Environmental Management, 2009, 416 p.

LEHMANN, J. A handful of carbon. *Nature*, 447:10-11, 2007.

LI, J.; MARIONNEAU, C.; ZHANG, R.; et al. Calmodulin Kinase II Inhibition Shortens Action Potential Duration by Upregulation of K⁺ Currents. *Circulation Research*, 99:1092-1099, 2006.

LIANG, C.; ZHU, X; FU, S.; et al. Biochar alters the resistance and resilience to drought in a tropical soil. *Environmental Resource Letters*, 9:1-6, 2014.

LISBOA, B.B.; VARGAS, L.K.; SILVEIRA, A.O.; et al. Indicadores Microbianos de Qualidade do Solo em Diferentes Sistemas de Manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36:45-55, 2012.

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: WEAVER, R.W.; SCOTT, A.; BOTTOMELEY, P.J. Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties. Madison: Soil Science Society of America, Part 2. 1994. p. 778-835. (Special Publication, 5).