



Determinação da atividade da enzima β -Glicosidase em Neossolo Quartzarênico com uso de diferentes tipos de biocarvão⁽¹⁾.

Giselle de Araújo Ferreira⁽²⁾; Flávia Carolina R. Locatelli⁽²⁾; Heiriane Martins Sousa⁽³⁾; Alicia B. Speratti⁽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⁾ Graduandas em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEVZ), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, Mato Grosso (MT), e-mail: giselleaferreira@outlook.com; ⁽³⁾ Doutoranda no programa de pós-graduação em Agricultura Tropical (PPGAT), FAMEVZ - UFMT; ⁽⁴⁾ Doutoranda no programa de Pós-graduação em Resource Management and Environmental Studies na University of British Columbia (UBC) ⁽⁵⁾ Professores e pesquisadores no PPGAT-FAMEVZ-UFMT.

RESUMO: O biocarvão (biochar) é produzido pela pirólise de resíduos de biomassa e possui elevado teor de carbono orgânico com elevada resistência à mineralização, sendo aplicado ao solo com a função de melhorar propriedades físicas, químicas e biológicas. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da aplicação de 12 materiais de biocarvão em Neossolo Quartzarênico quanto à atividade da β -Glicosidase. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação utilizando vasos com solo e mais 5% de biocarvão (exceto o controle, somente solo). Os biocarvões foram obtidos de quatro fontes de matérias-primas: dejetos de suínos, capulho de algodão, cavaco de eucalipto e torta do filtro da cana-de-açúcar, pirolisados à 400°, 500° e 600°C. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, adotando-se o esquema fatorial 4x3 + controle e quatro repetições, totalizando 52 parcelas, onde se cultivou *Zea mays* por 42 dias. Após, coletou-se o solo para determinação da β -Glicosidase, com quantificação da produção do *p*-nitrofenol. A produção de β -Glicosidase foi alterada com a adição de biocarvão no solo. Os solos com uso de biocarvões produzidos na temperatura de 400°C favoreceram a produção dessa enzima. A β -Glicosidase sofreu redução com o uso dos biocarvões das matérias-primas de capulho de algodão (600°C), dejetos de suínos (500°C) e torta do filtro da cana-de-açúcar (500° e 600°C). Considerando o custo energético para produção dos biocarvões e os melhores desempenhos para atividade da enzima β -Glicosidase, os biocarvões produzidos na temperatura de pirólise de 400°C são os mais vantajosos para uso em Neossolo Quartzarênico.

Termos de indexação: biochar, atividade enzimática, solo arenoso.

INTRODUÇÃO

O Biocarvão (biochar) é resultado da queima incompleta de restos de materiais orgânicos, desta forma, possui alto teor de carbono e grande área superficial devido ao processo de queima que aumenta sua porosidade. Segundo Brady & Weil, (2008), quando o biocarvão está presente na mistura do solo, este contribui para a natureza física do solo de maneira significativa, influenciando profundidade, textura, porosidade e consistência através da mudança da superfície específica, distribuição do tamanho dos poros, distribuição dos tamanhos das partículas, densidade e compactação.

Em adição, indiretamente, muitos aspectos químicos e biológicos da fertilidade do solo podem ser inferidos a partir das propriedades físicas, como a apresentação física dos sítios de reações químicas e a prestação de proteção de habitat para a microbiota do solo (Brady & Weil, 2008).

A microbiota do solo pode ser avaliada pela atividade da enzima β -Glicosidase. Esta enzima é frequentemente encontrada em solos e é utilizada como um indicador da sua qualidade, pois é influenciada diretamente pelo teor de carbono no solo. Essa enzima atua na etapa final do processo de decomposição da celulose, e é responsável pela hidrólise dos resíduos de celobiose formando o açúcar simples β -D-glucose (Tabatabai, 1994).

Uma das características do biocarvão sobre a microbiota do solo é fornecer habitat para esses micro-organismos por meio da distribuição de poros no biocarvão, pois protege os micro-organismos da predação, dessecação, além de fornecer carbono e suprir necessidades energéticas e de nutrientes (Saito & Muramoto, 2002).

O biocarvão pode ser aplicado em Neossolos Quartzarênicos que, Manzatto et al. (2002) descreve como solos profundos, com espessura superior a 50 cm, de textura essencialmente arenosa por todo o solo, e ausência de minerais



primários alteráveis (sem reserva de nutrientes). Estes solos apresentam fertilidade muito baixa, baixa capacidade de retenção de água, baixa atividade microbiana e suscetibilidade à erosão.

Nesse sentido, a incorporação do biocarvão pode contribuir de forma significativa para a melhoria dos atributos físicos, químicos e biológicos neste tipo de solo.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade da enzima β -Glicosidase como indicador da qualidade de um Neossolo Quartzarênico submetido à aplicação de 12 tipos de Biocarvão e cultivado com milho (*Zea mays*).

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido por meio de experimento conduzido em casa de vegetação. O solo utilizado é classificado como Neossolo Quartzarênico, e foi obtido de talhões comerciais no município de Campo Verde – MT.

Foram utilizados 12 materiais distintos de biocarvão, sendo estes obtidos de quatro fontes de matérias-primas (dejeito de suínos, capulho de algodão, cavaco de eucalipto e torta do filtro da cana-de-açúcar) submetidos por meio de um biorreator comercial a três temperaturas de pirólise: 400°, 500° e 600°C.

Tratamentos e amostragens

A pesquisa foi desenvolvida em casa de vegetação equipada com sistema de resfriamento automático Pad Argila e temperatura regulada pra 28°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). O delineamento experimental foi em blocos casualizados, adotando-se o esquema fatorial 4x3 + controle (sem biocarvão), sendo quatro matérias-primas e três temperaturas de pirólise, descritas anteriormente, com quatro repetições (blocos), totalizando 52 parcelas avaliadas.

Cada parcela foi composta por um vaso, preenchido com 8 kg de solo seco e adicionado biocarvão na quantidade de 5% do peso do solo, correspondente a 400g de biocarvão. Posteriormente foi feita a homogeneização, com exceção para os controles, nos quais o biocarvão não foi adicionado.

Foram semeadas quatro sementes de milho híbrido (DKB 390 VT PRO2) por vaso, sendo mantidas com adubação semelhante para todos os tratamentos e calculada proporcionalmente para os 8Kg de solo utilizados: 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 aplicação da ureia parcelada aos 20 e 30 dias após plantio).

As plantas de milho (*Zea mays*) foram mantidas por um período de 42 dias, com irrigação inicialmente feita uma vez por semana e, após 20 dias do plantio, aumentou-se para duas irrigações semanais, calculada na capacidade de campo.

Ao final, a biomassa do milho, parte aérea e raízes, foi retirada do vaso, o solo foi peneirado em peneira com abertura de 2 mm, homogeneizado e coletado para quantificação da enzima β -Glicosidase.

A determinação da atividade da β -Glicosidase foi baseada de acordo com a metodologia de Tabatabai (1994), pelo método da determinação colorimétrica do *p*-nitrofenol produzido, quando o solo é incubado durante o tempo de 1 hora com o substrato PNG (*p*-nitrofenil- β -D-glicosídeo).

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

Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov, e apresentando distribuição normal prosseguiu-se com a análise de variância (ANOVA). As médias obtidas foram comparadas, por meio do teste de Dunnett ao nível de significância $< 0,05\%$, com as médias do controle. Os biocarvões foram comparados entre si, utilizando as médias dos tratamentos, com exceção do controle, por meio do teste de Scott-Knott ao nível de significância $< 0,05\%$ em esquema fatorial 4x3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A utilização de biocarvão não afetou significativamente a atividade da enzima β -Glicosidase quando comparada ao controle pelo teste de Dunett (**Figura 1**). Esse resultado pode estar associado ao fato da maior parte do carbono presente no biocarvão ser estável e não estar prontamente mineralizável, tal como Rezende et al. (2011) descreve, o biocarvão se degrada muito lentamente, criando um estoque de carbono no solo de longo prazo.

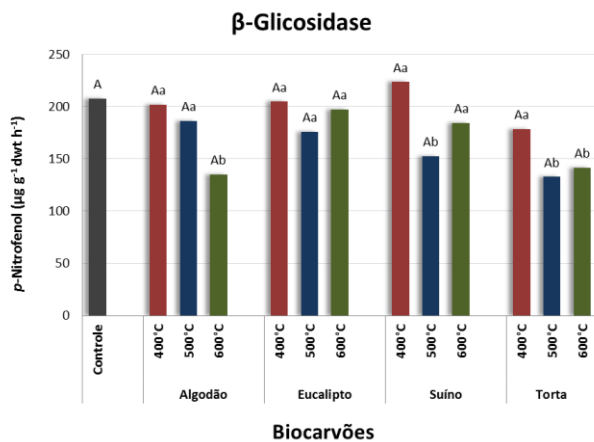


Figura 1 – Produção da β -Glicosidase em um Neossolo Quartzarênico cultivado com *Zea mays*, com adição de diferentes tipos de biocarvão, expressa em $\mu\text{g p-Nitrofenol h}^{-1} \text{ g solo seco}^{-1}$. Letras iguais maiúsculas não diferem os tratamentos com biocarvão do controle pelo teste Dunnett ($p < 0,01\%$) e letras iguais minúsculas não diferem entre os biocarvões pelo teste Scott-Knott ($p < 0,01\%$).

De acordo com o teste de Scott-Knott, os biocarvões de algodão (exceto na temperatura de pirólise 600°C), eucalipto, suíno (exceto na temperatura de pirólise de 500°C) e torta na temperatura de pirólise de 400°C apresentaram os melhores desempenhos quanto à atividade da enzima β -Glicosidase, quando comparados os 12 tipos de biocarvões entre si (**Figura 1**).

A baixa atividade da β -Glicosidase nos biocarvões de algodão na temperatura de pirólise de 600°C, de suíno na temperatura de pirólise de 500°C e torta na temperatura de 500° e 600°C, quando comparados aos demais tipos de biocarvão, pode ser explicada pela temperatura de pirólise utilizada que pode não ser a mais adequada para o tipo de matéria-prima.

McClellan et al. (2007) descreve que a qualidade do biocarvão depende da matéria-prima e condições de pirólise, e que, em algumas condições de baixa temperatura de pirólise podem ser deixados resíduos de bio-óleos e outros derivados re-condensados na superfície do biocarvão. Esses bio-óleos podem servir como substrato para o crescimento e metabolismo microbiano (Ogawa, 1994), mas também podem ser tóxicos para alguns micro-organismos (McClellan et. al, 2007).

De acordo com Nobrega (2011), as baixas temperaturas originam um biochar mais ácido, aumentando o pH deste com o aumento da temperatura. Nesse sentido, as temperaturas de

pirólise mais altas para os biocarvões de algodão, suíno e torta podem ter tornado o pH mais alcalino e afetado a produção dessa enzima, pois a maioria das β -Glicosidasas possuem atividade ótima em pH entre 5,0 e 6,0.

Na **figura 2**, estão apresentados os resultados da β -Glicosidase em função da pirólise dos biocarvões. Podemos observar que com o uso dos biocarvões produzidos na temperatura de pirólise de 400°C, houve uma maior atividade enzimática da β -Glicosidase em comparação com as outras temperaturas de pirólise.

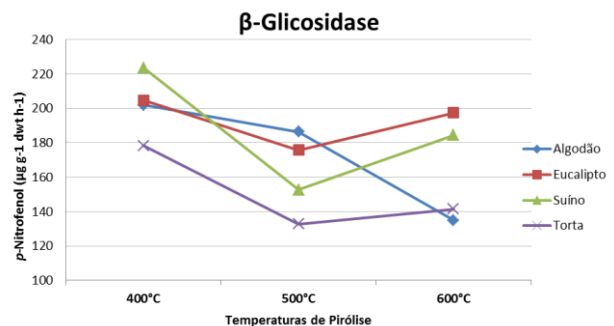


Figura 2 – Produção da β -Glicosidase em um Neossolo Quartzarênico cultivado com *Zea mays*, em função da temperatura de pirólise de biocarvões oriundos de quatro matérias-primas (capulho do algodão, eucalipto, dejetos de suíno e torta do filtro da cana-de-açúcar), expressa em $\mu\text{g p-Nitrofenol h}^{-1} \text{ g solo seco}^{-1}$.

De acordo com Nguyen et al. (2010), altas temperaturas contribuem para o aumento da superfície específica, ou seja, ocorre o aumento da quantidade de microporos no biocarvão conforme a temperatura de pirólise aumenta. Shaaban et al. (2013) descreve que os macroporos presentes no biocarvão, fornecem dimensões adequadas para habitação e reprodução de grupos de micro-organismos do solo.

Nesse sentido, os biocarvões produzidos com temperaturas mais baixas de pirólise (400°C), por possuírem maior quantidade de macroporos forneceram condições mais adequadas para o desenvolvimento da microbiota e consequente maior produção da enzima β -Glicosidase.

CONCLUSÕES

A incorporação de biocarvão em Neossolo Quartzarênico não inibe a atividade enzimática da β -Glicosidase.



A β -Glicosidase não sofre inibição em nenhuma temperatura de pirólise para o biocarvão de torta de eucalipto quando comparado aos demais biocarvões.

Todos os biocarvões na temperatura de pirólise de 400°C favorecem a produção da enzima quando comparados às outras temperaturas.

A atividade da β -Glicosidase é reduzida com o uso dos biocarvões das matérias-primas capulho de algodão na temperatura de pirólise de 600°C, dejetos de suínos na temperatura de pirólise de 500°C e torta do filtro da cana-de-açúcar nas temperaturas de pirólise de 500° e 600°C.

Levando em consideração o custo energético para produção dos biocarvões e os melhores desempenhos para atividade da enzima β -Glicosidase, as temperaturas de pirólise de 400°C são as que se mostram mais vantajosas para uso em Neossolo Quartzarênico.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

BRADY, N. C. & WEIL, R. R. An Introduction to the Nature and Properties of Soils, 14.ed. New Jersey: Prentice Hall, 2008. 980p.

MANZATTO, Celso Vainer; JUNIOR, Elias de Freitas; PERES, José Roberto R. Uso agrícola dos solos brasileiros. Rio de Janeiro: Embrapa, 2002. 174p.

McCLELLAN, A. T.; DEENIK, J.; UEHARA, G.; ANTAL, M. Effects of flash carbonized macadamia nutshell charcoal on plant growth and soil chemical properties. New Orleans: American Society of Agronomy Abstracts, 2007. 3-7p.

NGUYEN, B.T.; LEHMANN, J.; HOCKADAY, W.C.; JOSEPH, S.; MASIELLO, C.A.. Temperature sensitivity of black carbon decomposition and oxidation. Environmental Science and Technology, 44: 3324-3331, 2010.

NOBREGA, Isis Patricia Cardoso. Efeitos do biochar nas propriedades físicas e químicas do solo: sequestro de carbono no solo. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, 2011.

OGAWA, M. Symbiosis of people and nature in the tropics. Farming Japan. 28:10-34. 1994.

SAITO, M.; MURAMOTO, T. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi: The status quo in Japan and future prospects. Plant and Soil, 244:237-279, 2002.

REZENDE, E. I. P.; ANGELO, L. C.; SANTOS, S. S.; MANGRICH, A.S. Biocarvão (biochar) e sequestro de carbono. Revista Virtual de Química, 3:426-433. 2011.

SHAABAN, A.; SE, Sian-Meng; MITAN, Nona Merry M.; DIMIN, M. F. Characterization of biochar derived from rubber wood sawdust through slow pyrolysis on surface porosities and functional groups. Procedia Engineering. 68:365-371, 2013.

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