

AVALIAÇÃO DA ENZIMA β -GLICOSIDASE COM A APLICAÇÃO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES SOB ADUBAÇÃO VERDE.

Jorge OLIVEIRA¹

Juliana Maria Manieri VARANDAS²

RESUMO:.

PALAVRAS-CHAVES:

Introdução

O Brasil destaca-se pelo alto desempenho agroindustrial, recordes contínuos de produtividade de grãos, diferentes culturas, porém, com alto grau de investimento científico, financeiro e tecnológico. Segundo Lopes e Guilherme (2001,), o solo é o meio principal para o crescimento das plantas, é uma camada biologicamente ativa, resultante de transformações complexas que envolve o intemperismo de rochas e minerais, a ciclagem de nutrientes e a produção e decomposição da biomassa.

A degradação do solo correlaciona-se ao seu uso indevido, exploração, exaustão de diferentes culturas, uso excessivo de defensivos agrícolas ou associação à pastagem, alterando o relevo e diminuindo a fertilidade do solo por perda de nutrientes, ou como a lixiviação, uma vez que o solo é deixado descoberto pode ocorrer a lavagem superficial dos minerais. Por isso a necessidade da conservação do solo ou da sua recuperação é uma preocupação nos dias atuais.

¹ Discente: 9º ano Graduação em Agronomia, Centro Universitário Central Paulista – UNICEP, Rua Miguel Petroni 5111, 13563-470 São Carlos, São Paulo. Email

² Docente Centro Universitário Central Paulista – UNICEP, Rua Miguel Petroni 5111, 13563-470 São Carlos, São Paulo. Email

Por sua vez, outras adotadas em algumas regiões brasileiras referem-se ao desenvolvimento sustentável, utilizando-se a Bioanálise de solo (BioAS). A qualidade e saúde do solo correlacionam-se ao processo da qualidade do produto final, “(...) a saúde do solo engloba a natureza viva e dinâmica do solo, focando mais em sua capacidade contínua de sustentar o crescimento das plantas e manter suas funções (MENDES, et al.; 2021, p. 12).

Mendes et al.; (2021) ressaltam que este processo de necessidade da inclusão de parâmetros relacionados ao funcionamento biológico do solo (bioindicadores) nas análises:

Consiste na análise das enzimas arilsulfatase e β -glicosidase, associadas aos ciclos do enxofre e do carbono, respectivamente, preenchendo a lacuna deixada pela ausência do componente biológico nas análises do solo. O uso de sistemas de manejo que degradam o solo leva a sua perda de qualidade ou “adocimento” (MENDES, et al.; 2021, p. 14).

Auras (2011) destaca o uso da estratégia de adubação verde que se refere à um processo com adubos verdes para melhoria das condições físicas, químicas e biológicas do solo. Utilizam-se diferentes leguminosas que se associam a bactérias fixadoras de nitrogênio do ar, transferindo-o para as plantas.

Quanto às principais vantagens deste processo tem-se a melhoria das condições físicas, como porosidade e infiltração de água, reações químicas e biológicas, por meio da adição de matéria orgânica no solo visando a absorção de nutrientes com o aumento da concentração de microrganismos benéficos para o solo, protegendo-o contra erosão, e contribuindo para redução da dependência de insumos externos. Assim, é importante identificar espécies de adubos verdes mais adaptadas em cada região (GUIA 2018).

Como exemplos que podem ser utilizados em adubação verde, tem-se: milheto [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Brown] é uma opção importante dentre as espécies vegetais para adubação verde. É uma planta anual, forrageira de verão, de clima tropical, hábito ereto, porte alto, podendo atingir até 5 m de altura. Dentre as principais características do milheto, ressalta-se a tolerância à seca, capacidade em adaptar-se a

diferentes solos, facilidade de produzir sementes e boa adaptação à mecanização. Essa espécie vem sendo utilizada com maior intensidade, no Cerrado, no período de safrinha (fevereiro a abril) e na primavera (agosto a outubro), como adubo verde e cobertura do solo para plantio direto e outras finalidades, por exemplo, na integração lavoura-pecuária (BURLE et al., 2006). Outra espécie muito utilizada é a crotalária (Species plantarum) que classifica-se como arbusto, leguminoso de rápido crescimento e auxilia o controle dos nematóides do solo que são parasitas que costumam se hospedar e atacar diversos tipos de plantações, como soja, algodão e cana-de-açúcar, impondo graves prejuízos para as lavouras. A grande produção de massa verde faz da crotalária uma ótima opção para ser usada como cobertura do solo, para produção de matéria orgânica e para o controle natural das plantas daninhas (AURAS, 2011).

Passos et al.; (2008) afirmam que as análises de atividade enzimática do solo, assim como de outros atributos biológicos e bioquímicos, têm detectado alterações nos solos pelo seu uso, manejo ou outras influências antrópicas e o trabalho de Tabatabai, (1994) é uma referência para o manejo e mapeamento do desempenho da enzima beta-glicosidase que atua na etapa final do processo de decomposição da celulose, pela hidrolisação dos resíduos de celobiose, e alterações em sua atividade podem ter, portanto, influência sobre a qualidade do solo:

Brasil (2015) afirma que os microrganismos eficientes são seres muito pequenos (fungos e bactérias) que vivem naturalmente em solos férteis e em plantas, trata-se de uma técnica acessível, baixo custo e auxiliam na potencialização do solo verde.

Esses microrganismos podem ser utilizados na agricultura e na criação animal.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença da enzima β -glicosidase em solo sob sistema de adubação verde com crotalária e milho, através da aplicação de microrganismos eficientes.

Materiais e métodos

O estudo foi realizado no campus da UNICEP – Centro Universitário Central Paulista, São Carlos – SP, latitude: -22.004361, longitude: -47.90080589999999, em uma área de 551m² em Latossolo Vermelho Amarelo distrófico textura média.

O experimento foi instalado em uma área de 551m², o solo apresentou as seguintes características com relação a fertilidade: pH em CaCl₂: 4,6; matéria orgânica: 33 g dm⁻³; Saturação por bases: 42%; teores de P, K, Zn, Fe, Mn, Cu e B de 14; 1,3; 1,4; 42; 6,8; 2,8; e 0,32 mg dm⁻³ e de Ca, Mg, H + Al de 19; 11; e 43 mmol_c dm⁻³.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados (DBC), com 6 tratamentos e 4 repetições totalizando 24 parcelas (Tabela 1), o preparo do experimento deu-se em 26 de março de 2022, em uma área adubada, gradeada e arada. A aplicação dos microrganismos deu-se em 6 vezes ao longo do tratamento. A primeira antes do plantio e a última antes da última colheita. Com essa prática esperava-se auxiliar na recuperação do solo e como consequência um melhor desenvolvimento das plantas.

Na tabela 01, apresentam-se os resultados dos tratamentos utilizados referenciados por letras: A= tratamento de milho, B= tratamento crotalária, C= tratamento crotalária e milheto associados, D=tratamento com milho e

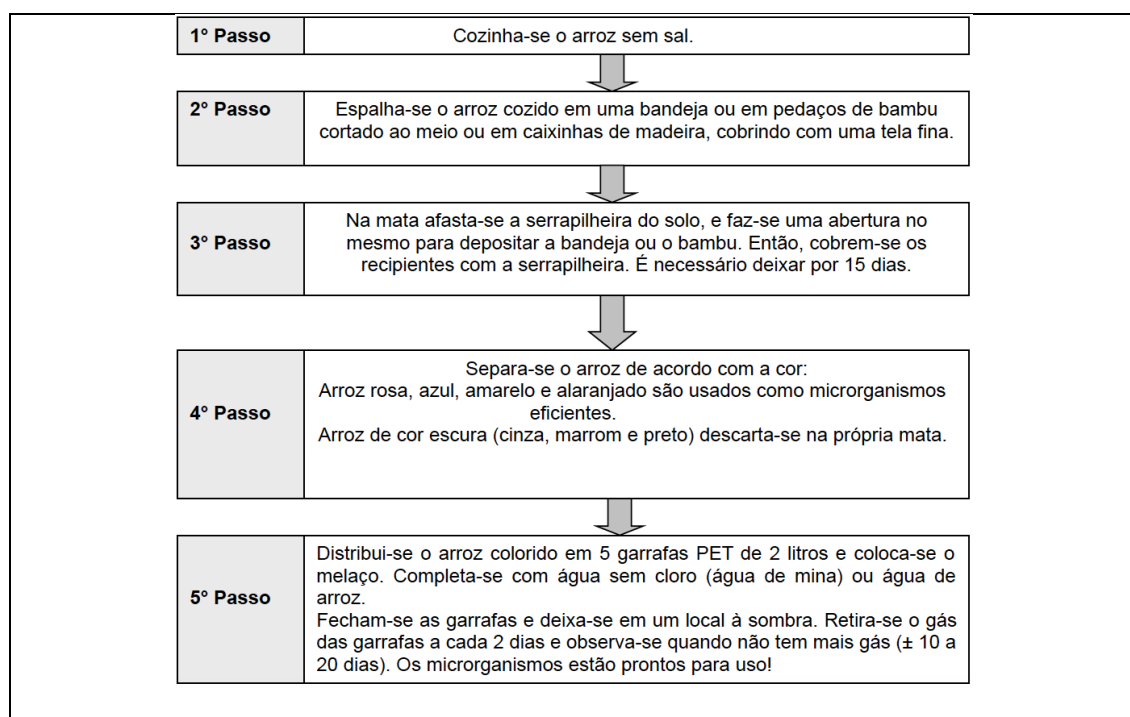
microrganismos, E= tratamento de crotolária e microrganismos e F+ referente ao tratamento com milho, crotolária e microrganismos.

Tabela 01. Delineamento experimental

TRAT 1 Milho	TRAT 2 Crotolária	TRAT 3 Crotolária + Milho	TRAT 4 Milho + microrganismos	TRAT 5 Crotolária + microrganismos	TRAT 6 Milho+ Crotolária+ Microrganismos
A	B	C	D	E	F
B	C	D	E	F	A
C	D	E	F	A	B
D	E	F	A	B	C

Na fase de sementeira utilizou-se milho 16g de sementes, crotolária de 27g, Milho + microrganismos 16g sementes, Crotolária + microrganismos 27g de sementes, Milho+Crotolária+ Microrganismos 0,8g de sementes. No consórcio a proporção indicada foi de 3/1 que totalizou 8g de sementes em cada canteiro. Na seleção e preparação dos microrganismos (Figura 1), utilizou-se as orientações técnicas do Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento (2015).

Figura 01. Protocolo de preparação dos microrganismos



FONTE: Brasil (2015)

Foram coletadas amostras de solo para análise da enzima β -glicosídeas na profundidade de 0-10cm, com a utilização de um trado holandês em no final do ciclo. Essas coletas foram realizadas em dois períodos: a primeira coleta foi uma amostra representativa da área total antes da instalação do experimento; a segunda foram coletas uma amostra para cada tratamento no final do experimento. A análise foi realizada de acordo com a tecnologia Embrapa de Bioanálise de Solo (BioAS). Essa tecnologia interage o componente biológico às análises de rotina de solos e tem como base a análise da atividade das enzimas arilsulfatase e beta-glicosidase, O método para determinar a atividade enzimática foi de acordo com Tabatabai (1994):

A atividade da enzima β -glicosidase foi determinada, utilizando-se os métodos descritos por Tabatabai (1994) Esta metodologia tem por base a incubação, com temperatura a 37°C das amostras de solo, com uma solução tamponada de substratos específicos para cada enzima, promovendo a liberação do p-nitrofenol, que é determinado colorimetricamente, a partir disso é realizado a leitura através do espectrofotômetro com o programa UVProbe (Photometric) que gera os valores e a curva padrão (LIMA, 2021, p. 23).

Para cada amostra, realizou-se três repetições analíticas para validar os resultado, conforme protocolo Tabatabai (1994):

Para a determinação da quantidade de p-nitrofenol liberada por cada amostra foi utilizada, como base, uma curva padrão preparada com concentrações conhecidas de p- nitrofenol (0, 10, 20, 30, 40 e 50 μg de p-nitrofenol mL⁻¹). A atividade enzimática do solo é expressa em microgramas de p-nitrofenol liberado por hora por grama de solo seco (μg p-nitrofenol h⁻¹ g⁻¹ solo) (LIMA, 2021, p. 22).

Resultados e discussão

A presença de biomassa microbiana no solo é um excelente indicador da saúde e da vida do solo. Esses solos apresentam características favoráveis ao desenvolvimento de plantas como uma melhor estrutura devido a presença de agregados, melhor infiltração de água, aumento da capacidade de troca catiônica, dentre outros. Além das

características físico-química, temos ainda a questão ambiental que envolve o sequestro de carbono e a biorremediação de pesticidas.

O acompanhamento da presença ou evolução da enzima beta glicosidase no solo reflete diretamente as mudanças do uso do solo é apresentado pelos autores Jackson et al., (2003); Araújo & Melo, 2010).

Na primeira coleta para determinação da enzima b-glicosidase que foi realizada antes da instalação do experimento foi encontrado um valor de $86,8 \mu\text{g PNG.g}^{-1}, \text{h}^{-1}$ em uma amostra representativa de toda a área do experimento. De acordo com Tabatabai (1994) esse valor é considerado um valor médio quando comparado aos dados encontrados no Brasil.

Para a segunda coleta de solo para a determinação da enzima os dados estão apresentados na Tabela 3. Podemos observar que os resultados dos tratamentos apresentaram uma diferença significativa, principalmente quando correlacionamos os tratamentos com e sem microrganismos. É o que verificamos nos tratamentos A e D com respectivamente $89,7 \mu\text{g PNG.g}^{-1}$ e $94,6 \mu\text{g PNG.g}^{-1}$, passando de uma escala média para alta. O mesmo podemos observar para os tratamentos B e E (crotalaria) com os valores $88,4 \mu\text{g PNG.g}^{-1}$ e $95,0 \mu\text{g PNG.g}^{-1}$, sem a aplicação de microrganismos e com a aplicação, respectivamente. Os tratamentos C ($91,7 \mu\text{g PNG.g}^{-1}$) e F ($96,6 \mu\text{g PNG.g}^{-1}$) seguiram a mesma tendência.

Houve uma evolução na quantidade de enzima presentes no solo depois das aplicações dos microrganismos eficientes quando comparamos o valor inicial ($86,8 \mu\text{g PNG.g}^{-1}, \text{h}^{-1}$) da B-glicosidase e dos demais valores apresentados na Tabela 3.

Tabela 03: Valores da enzima B-glicosidase para os seis tratamentos submetidos ao Teste de Tukey a 5% de probabilidade referentes a segunda coleta de solo, ao final do experimento.

		TRATAMENTOS					
BLOCOS		A	B	C	D	E	F
	1	90	87,9	91,3	94,5	94,8	96,9
	2	89,5	88,9	92	94,3	94,9	96,3
	3	89,9	88,6	91,4	94,9	95,1	96,5
	4	89,4	88,2	92,1	94,7	95,2	96,7
*	89,7	88,4	91,7	94,6	95	96,6	

*Média dos tratamentos; * Os resultados foram expressos em $\mu\text{g PNG.g}^{-1}, \text{h}^{-1}$ (p-nitrofenil- β -D-glicosídeo).

A capacidade do solo de estabilizar e proteger enzimas está relacionada à sua capacidade de armazenar e estabilizar a matéria orgânica (afinal a enzima é uma molécula orgânica), que por sua vez é influenciada por propriedades estruturais do solo (textura, agregação, porosidade, etc.). Por essa razão, o aumento da atividade enzimática ao longo do tempo é um prenúncio de que o sistema está favorecendo o acúmulo de matéria orgânica do solo (SILVA , et al., 2012). Por isso é de grande importância o manejo correto do solo. Verificamos que a interação milho e crotalária com aplicação de microrganismos resultou em melhores resultados. Neste consórcio integramos dois tipos de culturas sendo uma gramínea e outra leguminosa. Quando diversificamos as espécies de plantas favorecemos a presença de uma maior diversidade de microrganismos pois o sistema radicular de cada espécie produz exsudados diferentes que atraem microrganismos diversos e favorecem a sua permanência no solo.

Corroborando com estes resultados, Lima et al.; (2012) destacaram que o uso de leguminosas para adubação verde é relevante, auxilia na melhoria do solo e por sua vez na cultura instalada. Evidencia-se que para o amplo aproveitamento da aplicação de

microrganismos deve haver sincronia entre a mineralização dos nutrientes dos resíduos do adubo verde e a absorção pela cultura agrícola.

A matéria orgânica resultante, principalmente, da deposição de resíduos de origem animal e vegetal, que sofrem ação decompositora dos microrganismos, auxiliados pela ação da macro e mesofauna. Parte do carbono presente nos resíduos é liberado para a atmosfera como CO₂, e o restante passa a fazer parte da matéria orgânica, como um componente do solo. O efeito da matéria orgânica sobre os microrganismos pode ser avaliado a partir da biomassa e da atividade microbiana, parâmetros que representam uma integração de efeitos sobre as condições biológicas do solo (LIMA, 2021, p. 05).

Reforça, portanto, a importância em coletar microrganismos eficientes de um ambiente saudável como as florestas e levar para áreas degradadas.

Na tabela 4 estão apresentados os valores da enzima b-glicosidase expressos em $\mu\text{g PNG.g}^{-1}, \text{h}^{-1}$. Observamos que mesmo não aplicando microrganismos no solo, a interação milho e crotalaria apresentou uma maior evolução com relação a presença da enzima, indicando um acúmulo maior de matéria orgânica no solo.

Tabela 4. Teste fatorial com desdobramento entre as interações entre as culturas e a aplicação ou não de microrganismos.

CULTURA			
MICROORGANISMO	MILHETO + CROTALARIA	CROTALARIA	MILHETO
Sim	96,6 ab	95,0 ba	94,6 ba
Não	91,7 ab	88,4 cb	89,7 bb

Já com a aplicação de microrganismos eficientes, todos os tratamentos mostraram um aumento na quantidade da enzima b-glicosidase.

Conclusão

Podemos concluir que técnicas simples como a coleta de microrganismos eficientes em áreas preservadas são eficientes para melhorar a qualidade dos solos. Verificamos também a importância da diversidade de espécies como o consórcio entre gramíneas e leguminosas que favorecem a quantidade de matéria orgânica no solo e a biomassa microbiana.

Agradecimentos

Agradeço à Deus pelo bom da sabedoria, aos meus pais que sempre apoiaram e incentivaram minha carreira e principalmente os professores que ao longo da graduação ensinaram, compartilharam, insistiram para que sempre buscássemos o melhor de nós. Educação é tudo! E minha orientadora, pela paciência, profissionalismo e apoio na construção deste.

ABSTRAT:

KEYWORDS:

Referências bibliográficas

AURAS, N.E.; **Adubação verde: Utilização de leguminosas contribui no fornecimento de nitrogênio para culturas de interesse comercial e protege solo da erosão.** Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, Setembro de 2011

BRASIL, **Preparo de microrganismos eficientes (E.M)**, Fichas Agroecológicas de Tecnologias apropriadas para agricultura organica. Ministerio da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2015

BURLE, M. L. et al. Caracterização das espécies de adubo verde. In: CARVALHO, A. M. AMABILE, R. F. (ed). **Cerrado: Adubação verde.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006. 369 p.

FONSECA, E.V.; **Atividade enzimática como indicadora de qualidade do solo.** Monografia Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília – UnB, Brasilia-DF, 2021

GUIA, A. P. de O. M. **Produtividade de milho verde cultivado em sucessão a adubação verde com aplicação de microrganismos eficientes, nas condições de matias barbosa,** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. p.7a. Fev. 2018

LIMA, A.C.A.; **Efeito da secagem das amostras de solo nos níveis de atividade das enzimas β -glicosidase e arilsulfatase.** Monografia Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2021

LIMA, J.D.; et al.; Produção de biomassa e composição química de adubos verdes cultivados no Vale do Ribeira. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 28, n. 5, p. 709-717, Sept./Oct. 2012

LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G. **Vocação da terra.** São Paulo: ANDA. 2001. 23 p.

MARES GUIA, Ana. P. de o.; **Produtividade de milho verde cultivado em sucessão a adubação verde com aplicação de microrganismos eficientes, nas condições de Matias Barbosa, MG.** Dissertação Mestrado Curso de Pós-Graduação em Agricultura Orgânica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Fevereiro de 2018

MENDES, I. de C.; et al.; **Tecnologia BioAS Uma maneira simples e eficiente de avaliar a saúde do solo.** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Fevereiro de 2021

PAZUTTI, L.V.B.; CHAER, G.M.; **Desenvolvimento de metodologia de baixo custo para análise de B-glicosidase em solos.** Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, Dezembro de 2012

PASSOS, S.T.; Atividade enzimática e perfil da comunidade bacteriana em solo submetido à solarização e biofumigação. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.43, n.7, p.879-885, jul. 2008

SILVA, C.F. de.; et al.; Carbono orgânico total, biomassa microbiana e atividade enzimática do solo de áreas agrícolas, florestais e pastagem no médio Vale do Paraíba do Sul (RJ). R. Bras. Processos e Propriedades do Solo, **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, 36 (6), Dez 2012

SILVEIRA, A.P.D.; et al.; **Determinação da atividade de enzimas em solos**. Instituto Agrônomo, Centro de Solos e Recursos Ambientais – IAC, Abril de 2022

ANEXOS

Arquivo analisado:

C:\Unicep\orientandos TCC\2022\fatorial Jorge 1.dbf

Variável analisada: ENZIMA

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
CULTURA	2	27.213333	13.606667	117.524	0.0000
MICRORG	1	179.306667	179.306667	1548.714	0.0000
CULTURA*MICRORG	2	3.853333	1.926667	16.641	0.0002
BLOCO	3	0.103333	0.034444	0.298	0.8266
erro	15	1.736667	0.115778		

Total corrigido 23 212.213333

CV (%) = 0.37

Média geral: 92.666667 Número de observações: 24

Teste Tukey para a FV CULTURA

DMS: 0,442145437312254 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 8

Erro padrão: 0,120300549550791

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
crotalaria	91.700000	a1
milheto	92.150000	a2
milheto crotalaria	94.150000	a3

Teste Tukey para a FV MICRORG

DMS: 0,296082030089735 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 12

Erro padrão: 0,0982249873919473

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
n.,o	89.933333	a1

sim 95.400000 a2

Análise do desdobramento de CULTURA dentro de cada nível de:

MICRORG

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
CULTURA	/1 2	22.106667	11.053333	95.470	0.0000
CULTURA	/2 2	8.960000	4.480000	38.695	0.0000
Erro	15	1.736667	0.115778		

Codificação usada para o desdobramento
cod. MICRORG

1 = n.,o
2 = sim

Teste de Tukey para o
desdobramento de CULTURA dentro da codificação:

1

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

Teste Tukey para a FV CULTURA

DMS: 0,625288073988373 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 4
Erro padrão: 0,170130668735665

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
crotalaria	88.400000	a1
milheto	89.700000	a2
milheto crotalaria	91.700000	a3

Teste de Tukey para o
desdobramento de CULTURA dentro da codificação:

2

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

Teste Tukey para a FV CULTURA

DMS: 0,625288073988373 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 4
Erro padrão: 0,170130668735665

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
milheto	94.600000	a1
crotalaria	95.000000	a1

milheto crotalaria 96.600000 a2

Análise do desdobramento de MICRORG dentro de cada nível de:

CULTURA

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
MICRORG	/1 1	87.120000	87.120000	752.476	0.0000
MICRORG	/2 1	48.020000	48.020000	414.760	0.0000
MICRORG	/3 1	48.020000	48.020000	414.760	0.0000
Erro	15	1.736667	0.115778		

Codificação usada para o desdobramento

cod. CULTURA

1 = crotalaria

2 = milheto

3 = milheto crotalaria

Teste de Tukey para o

desdobramento de MICRORG dentro da codificação:

1

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

Teste Tukey para a FV MICRORG

DMS: 0,512829119323559 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 4

Erro padrão: 0,170130668735665

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
n.,o	88.400000	a1
sim	95.000000	a2

Teste de Tukey para o

desdobramento de MICRORG dentro da codificação:

2

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

Teste Tukey para a FV MICRORG

DMS: 0,512829119323559 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 4

Erro padrão: 0,170130668735665

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
n.,o	89.700000	a1
sim	94.600000	a2

Teste de Tukey para o
desdobramento de MICRORG dentro da codificação:

3

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

Teste Tukey para a FV MICRORG

DMS: 0,512829119323559 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 4
Erro padrão: 0,170130668735665

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
-------------	--------	---------------------

n.,o	91.700000	a1
sim	96.600000	a2