



ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE FOSFATASE E B-GLICOSIDASE EM SOLO DE DIFERENTES CULTURAS

Amanda Lucia Alves^{1*}

¹Laboratório de Fitopatogenicos, UFRPE

*amanda.alves@outlook.com

INTRODUÇÃO

A microbiota do solo, responsável pela decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes e fluxo de energia dentro do solo, exerce importante influência na transformação da matéria orgânica, estocagem do carbono e nutrientes minerais (JENKINSON e LADD, 1981). Características biológicas e bioquímicas do solo como atividade enzimática, taxa de respiração, diversidade e biomassa microbiana são indicadores sensíveis que podem ser empregados no monitoramento de alterações ambientais, atuando como ferramentas que auxiliam na orientação e planejamento da avaliação dos diferentes manejos agrícolas do solo (TURCO et al., 1994).

A decomposição de compostos orgânicos pela microbiota ocorre a partir da atividade de enzimas dos grupos das hidrolases e oxidoredutases, que por sua vez catalisam reações de catabolismo de uma diversidade de compostos orgânicos complexos, envolvendo a maioria dos ciclos de nutrientes (PAUL e CLARK, 1998). Segundo Bending et al. (2002), a atividade enzimática no solo pode contribuir com informações de mudanças qualitativas na matéria orgânica do solo, de forma que o aumento da atividade das enzimas pode está ligado com a estabilização do carbono no solo.

Enzimas do grupo das glicosidases são amplamente encontradas na natureza, desempenhando importante papel no ciclo do carbono, isso porque os produtos obtidos pela ação destas enzimas são importantes fontes de energia para os microrganismos do solo (DICK et al., 1996). A B-glicosidase catalisa a hidrólise de vários B-glicosídeos, sendo sua determinação muito utilizada para a avaliação da qualidade do solo, devido ao fato de esta enzima ser muito sensível a práticas de manejo do solo (DE-POLLI, 2005). A determinação da atividade enzimática por sua vez pode indicar a capacidade do solo em degradar ou transformar substratos, gerando dados indiretamente ligados à diversidade funcional (DICK et al., 1996).

As fosfatases são enzimas fundamentais para o processo de mineralização do fósforo, bem como para a ciclagem deste nutriente no ambiente. De acordo com seu pH ótimo de ação, as fosfatases podem ser classificadas como ácidas (pH 6,5) ou alcalinas (pH 11). Estas enzimas se encontram amplamente distribuídas no solo e têm sido bastante estudadas, devido a sua capacidade em catalisar a hidrólise de fósforo orgânico a fósforo inorgânico, disponibilizando-o para as plantas (ALEF e NANNIPIERI, 1995).

O objetivo deste trabalho foi de determinar as atividades enzimáticas de B-glicosidase e fosfatase em diferentes tipos de culturas plantadas no solo.

Amostras de solo foram coletadas em experimento conduzido em pomar de mangueira (*Mangifera indica*) localizado no Campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco. O experimento foi conduzido em blocos ao acaso com quatro repetições sendo os tratamentos compostos por plantas de cobertura, gramínea (GRA), leguminosa (LEG) e consórcio de gramínea e leguminosa (GRA+LEG).

O tratamento 1 (T1) era uma espécie de GRA (*Sorghum bicolor*), T2 uma espécie de LEG (*Canavalia ensiformes*) e T3 consórcio GRA e LEG. Em cada tratamento foram coletadas quatro amostras simples na profundidade de 0-20 cm.

Na área de plantio da mangueira instalado no campo, foram semeadas 12 linhas de plantas de cobertura (GRA, LEG, GRA + LEG) na entrelinha da mangueira, o espaçamento das linhas de semeadura foi 50 cm, sendo a primeira linha localizada a 100 cm da base do caule da mangueira. As plantas foram cortadas quando atingiram o estado de pleno florescimento e os resíduos permaneceram na superfície do solo para incorporação de matéria orgânica. A coleta de solo foi realizada um mês após o corte das plantas de cobertura.

A mensuração da atividade da fosfatase foi realizada pela leitura em espectrofotômetro do *p* - nitrofenol, resultante da atividade enzimática da fosfatase. Pesou-se 0,5 g de solo em tubo de Falcon de 15 mL. Adicionou-se 2 mL do tampão MUB (tampão universal) (pH 6,5) e 0,5 mL de solução PNP, agitando o frasco por alguns segundos até misturar o conteúdo. O frasco foi fechado e incubado em banho Maria por 1 hora a 37 °C. Após a incubação, adicionou-se 0,5 mL de solução CaCl₂ e 2,0 mL de NaOH (0,5 mol L⁻¹), agitando por alguns segundos até misturar o conteúdo. Em seguida a solução foi filtrada e a absorbância foi medida em espectrofotômetro à 410 nm.

Para o controle foi pesado 0,5 g de solo em tubo de Falcon de 15 mL adicionando-se 2 mL de MUB (pH 6,5) e agitou-se o frasco por alguns segundos até misturar o conteúdo. Em seguida o frasco foi incubado em banho Maria por 1 hora a 37 °C. após este período, adicionou-se 0,5 mL de solução CaCl₂ e 2,0 mL de NaOH (0,5 mol L⁻¹), agitando por alguns segundos até misturar adicionando, em seguida, 0,5 mL de solução PNP e misturando até homogeneizar. A solução foi filtrada e a absorbância foi medida à 410 nm.

Para determinar a atividade da B-glicosidase pesou-se 0,5 g de solo em tubo Falcon de 15 mL. Em seguida adicionou-se 2 mL de MUB (pH 6,0) e 0,5 mL de solução PNG; agitou-se o frasco por alguns segundos até misturar o conteúdo. O frasco foi fechado e incubado em banho Maria por 1 hora a 37 °C. Adicionou-se 0,5 mL de solução CaCl₂ e 2,0 mL de tampão Tris (pH 12), agitou-se por alguns segundos a mistura. A solução foi filtrada e mediu-se a absorbância em espectrofotômetro à 410 nm.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o controle foi pesado 0,5 g de solo (amostra composta) em tubo Falcon de 15 mL e adicionou-se 2 mL de MUB (pH 6,0). Agitou-se o frasco por alguns segundos até misturar o conteúdo. Em seguida o frasco foi fechado e incubado em banho Maria por 1 hora a 37 °C. Adicionou-se 0,5 mL de solução PNG e 0,5 mL de solução CaCl_2 e 2,0 mL de tampão Tris (pH 12). Agitou-se por alguns segundos até misturar; em seguida a solução foi filtrada para mensurar a absorbância à 410 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo de atividade enzimática é reportado como indicador da qualidade do solo, da decomposição da matéria orgânica e da disponibilidade de nutrientes decorrentes das práticas de manejo ou do ambiente (QUILCHANO; MARANÓN, 2002). Estudo realizado por Silveira (2006) apontam a atividade enzimática de β -glicosidase, uréase, fosfatase ácida e atividade enzimática total (AET) como indicador das alterações do solo. Nesse trabalho é observado que a atividade enzimática possa ser influenciada pela quantidade de carbono orgânico no solo proveniente do plantio direto ou por deposição de material orgânico proveniente da mangueira. O carbono orgânico além de ser aproveitado como fonte de energia pelos microrganismos, protege as enzimas do ataque de enzimas proteolíticas, permanecendo de forma constante no solo. Na determinação da atividade enzimática de fosfatase dentro dos tratamentos (Tabela 1), houve diferença significativa entre T1:T3, sendo os valores médios de T3 e T1, 157,22 $\mu\text{g PNP g}^{-1}$ solo h^{-1} e 112,48 $\mu\text{g PNP g}^{-1}$ solo h^{-1} , respectivamente (Tabela 2), e o maior valor da atividade da fosfatase encontrado no ponto 2 do T3, 179,03 $\mu\text{g PNP g}^{-1}$ solo h^{-1} (Tabela 1). Nunes et al. (2009) observou que os maiores níveis de atividade desta enzima são encontrados em áreas sem cultivo do que em áreas cultiváveis à 22 e 30 anos com café. Também, Evangelista et al. (2012) observou que em área nativa do Cerrado ocorreram os maiores níveis de atividade da fosfatase, seguido por manejo orgânico da cultura da cana (sem revolvimento do solo), manejo convencional sem queima da palha e manejo orgânico com revolvimento do solo. Para a determinação da atividade enzimática de β -glicosidase, houve diferenças significativas entre os tratamentos T1:T2 e T1:T3. O valor médio de T1, T2 e T3, foi de 21,40, 41,53 e 39,10 $\mu\text{g PNG g}^{-1}$ solo h^{-1} , respectivamente (Tabela 2), com o maior valor no ponto 4 do T2, 46,02 $\mu\text{g PNG g}^{-1}$ solo h^{-1} (Tabela 1). O maior nível de atividade da β -glicosidase observado pode ser atribuído à adição de material orgânico provindo da deposição e lenta decomposição da incorporação de matéria orgânica proveniente da poda.

Tabela 1. Determinação da atividade de fosfatase e β -glicosidase em cada ponto de cada tratamento

| Tratamento | Fosfatase | β -glicosidase |
|------------|-----------|----------------------|
| GRA 1 | 91,75 | 18,41 |
| GRA 2 | 99,39 | 21,4 |
| GRA 3 | 146,3 | 15,79 |
| GRA 4 | 112,48 | 30,02 |
| LEG 1 | 138,33 | 41,53 |
| LEG 2 | 123,58 | 47,22 |
| LEG 3 | 134,22 | 31,36 |
| LEG 4 | 140,16 | 46,02 |
| GRA+LEG 1 | 150,81 | 40,78 |
| GRA+LEG 2 | 179,03 | 42,69 |
| GRA+LEG 3 | 157,22 | 33,84 |
| GRA+LEG 4 | 141,82 | 39,1 |

Tabela 2. Média entre cada tratamento com seus respectivos desvios padrão

| Tratamentos | Fosfatase \pm DP | β -glicosidase \pm DP |
|--------------|--------------------|-------------------------------|
| T1 (GRA) | 112,48 \pm 24,12 | 21,4 \pm 6,18 |
| T2 (LEG) | 134,07 \pm 7,43 | 41,53 \pm 7,21 |
| T3 (GRA+LEG) | 157,22 \pm 15,85 | 39,1 \pm 3,80 |

CONCLUSÕES

Os tratamentos T1 (Gramínea) e T3 (Gramínea e Leguminosa) diferiram significativamente em atividade enzimática da fosfatase e β -glicosidase. Os tratamentos T1 e T2 (Leguminosa) diferiram significativamente em β -glicosidase.

A atividade da fosfatase apresentou o maior valor em T3, indicando que o consórcio entre duas espécies diferentes de cultivares influenciam a atividade da fosfatase, consequentemente na comunidade microbiana que assimila fosfato.

REFERÊNCIAS

- ALEF, K.; NANNIPIERI, P. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. London: Academic Press, 1995.
- BENDING, G.D.; TURNER, M.K.; JONES, J.E. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry*, Elmsford, v. 34, p.1073-1082, 2002.
- DE-POLLI, H.; PIMENTEL, M. S. Indicadores de qualidade do solo. In: AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. (eds.) *Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável*. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica; Seropédica: Embrapa Agrobiologia, cap. 1. p. 17-28. 2005.
- DICK, R.P.; BREACKWELL, D.P.; TURCO, R.F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (eds.) *Methods for assessing soil quality*. Madison: SSSA, p.247-271. (SSSA Special Publication, 49). 1996.
- Evangelista, C. R. et al. Atividade enzimática do solo sob sistema de produção orgânica e convencional na cultura da cana-de-açúcar em Goiás. *Seminário: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 33, n. 4, p. 1251-1262, jul./ago. 2012
- JENKINSON, D.S. & LADD, J.N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E.A. & LADD, J.N., eds., *Soil Biol. Biochem.*, 5:415-471, 1981.
- NUNES, L. A. P. L.; DIAS, L. E.; BARROS, I. J. N. F.; KASUYA, M. C. M.; CORREIA, E. F. Impacto do monocultivo de café sobre os indicadores biológicos do solo na zona da área remanescente de Cerrado mineira. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 9, p. 2467-2474, 2009.
- PAUL, E.A.; CLARK, F.E. *Soil Microbiology and Biochemistry*. San Diego: Academic press, 339p. 1996.
- QUILCHANO, C.; MARANÓN, T. Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v. 35, n. 2, p. 102-107, 2002.
- SILVEIRA, R. B.; MELLONI, R.; MELLONI, E. G. P. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas, em Itajubá/MG. *Cerne*, v. 12, n. 1, p. 48-55, 2006.
- TURCO, R.F.; KENNEDY, A.C. & JAWSON, M.D. Microbial indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F. & STEWART, B.A., eds. *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison, Soil Science Society of America, p.73-90. (Special Publication, 35). 1994.