



## Atividade de Fosfatases em Solo Cultivado com Milho em Resposta à Adubação com Fertilizantes Organominerais Associados a Microrganismos Solubilizadores de Fosfato <sup>(1)</sup>.

**Cássia Naiara Soares Almeida<sup>(2)</sup>; Bárbara Rodrigues Araújo<sup>(3)</sup>; Jean Marcel Rodrigues Pinho<sup>(4)</sup>; Christiane Abreu de Oliveira Paiva<sup>(5)</sup>; Eliane Aparecida Gomes<sup>(5)</sup>; Flávia Cristina dos Santos<sup>(5)</sup>**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos da CNPq, Embrapa Milho e Sorgo, Fapemig, e UNIFEMM;

<sup>(2)</sup> Graduanda em Engenharia Ambiental; Centro Universitário de Sete Lagoas (UNIFEMM); Sete Lagoas, Minas Gerais; cassianaiarasouares71@gmail.com;

<sup>(3)</sup> Graduanda em Engenharia Ambiental; Centro Universitário de Sete Lagoas (UNIFEMM);

<sup>(4)</sup> Analista da Embrapa Milho e Sorgo;

<sup>(5)</sup> Pesquisador(a) da Embrapa Milho e Sorgo.

**RESUMO:** O uso indiscriminado de fertilizantes fosfatados totalmente acidulados reflete na sustentabilidade e ameaça a segurança ambiental das culturas brasileiras. Visando uma alternativa sustentável para a adubação fosfatada, esse trabalho avaliou o efeito de diferentes formulações de fertilizantes organominerais, para o cultivo de milho, sobre a atividade de enzimas do grupo das fosfatases como indicador do seu impacto na ciclagem de fósforo (P) do solo. Para isso, foi conduzido um experimento em campo experimental, utilizando 12 tratamentos relacionados à adubação fosfatada com superfosfato Triplo e adubos organominerais formulados com fosfato de rocha e cama de frango em combinação com, de microrganismos solubilizadores de P. O solo foi coletado aos 30 dias após emergência no florescimento da cultura e utilizado para a determinação da atividade enzimática de fosfatases. Para o desdobramento de coleta na fosfatase ácida e alcalina dentro de cada nível de tratamento, houve significância ( $P \leq 0,05$ ) apenas para os tratamentos 1, 3, 7, sendo que 4 e 6 somente na alcalina. No tratamento 2, com inoculante, ocorreu maior atividade enzimática ácida e alcalina. No desdobramento de tratamento, os tratamentos apresentaram significância apenas nos que foram inoculados, tratamentos 2, 3, 4. Não foi observada diferença estatística significativa no desdobramento de tratamento e coleta ( $P \leq 0,05$ ) nos tratamentos 8, 9, 10, 11 da atividade enzimática das duas coletas. Observou-se resultados satisfatórios significativos entre coletas com o uso de inoculantes, por ocorrer aumento na produção de enzimas fosfatase, disponibilizando fósforo no solo.

**Termos de indexação:** atividade microbiana do solo, enzimas, fósforo, *Zea mays*, Fosfato de rocha, cama de frango, biofertilizantes.

### INTRODUÇÃO

Para alcançar uma produtividade de grãos satisfatória em regiões tropicais, cujos solos possuem alta fixação de fósforo (P), é necessário corrigir a carência deste elemento por meio da utilização de fertilizantes. Dentre as opções de fonte de P disponíveis no mercado, os fertilizantes fosfatados totalmente acidulados ocupam posição de destaque, sendo frequentemente utilizados para a correção do solo (Lapido-Loureiro, 1996, PROCHNOW et al., 2004). No entanto, o uso indiscriminado de adubos fosfatados solúveis reduz a sustentabilidade e ameaça a segurança ambiental das culturas brasileiras. Além disso, estima-se que a quantidade de nutrientes contida somente nos resíduos da produção animal no Brasil, como na cama de aviários, supere a quantidade de nutrientes utilizada na agricultura brasileira na forma de fertilizantes. Em virtude disso, a busca por produtos que proporcionem à agricultura brasileira uma maior autonomia no mercado mundial de insumos e estratégias para o reaproveitamento dos resíduos agrícolas se tornam relevantes.

A transformação de resíduos orgânicos em fertilizantes organominerais enriquecidos com microrganismos e granulados têm sido o objetivo de vários estudos. Nestes casos, é possível somar-se a eficiência do fertilizante orgânico com o fertilizante mineral, para a formação do organo-mineral, a fim de suprir de maneira adequada às exigências nutricionais da cultura, possibilitando, assim maior produtividade agrônômica e econômica. Os microrganismos são alternativas atrativas e comprovadamente viáveis para vários processos biotecnológicos, como substitutos parciais ou totais de insumos químicos, em utilização conjunta com fosfatos de rocha e resíduos, como os de mandioca (Ogbo, 2010) de cana (Vassilev et al., 2009).



A produção de enzimas, ácidos orgânicos e hormônios por microrganismos, interagem diretamente com a absorção de nutrientes pelas plantas no solo. No caso do uso de fertilizantes organominerais, pouco se sabe sobre o efeito desse produto sobre o ambiente radicular das plantas e sobre como manipular esse ambiente pela introdução de novos microrganismos ou de bioestimulantes.

A atividade enzimática do solo tem sido usada como um indicador precoce e sensível às perturbações do solo como, plantio direto, adubação orgânica, rotação de culturas e inoculação microbiana, se comportando como reflexo do funcionamento do ecossistema e ciclagem de P (Kohler et al., 2007).

De acordo com Dick & Tabatabai (1993), os microrganismos seriam as fontes mais expressivas de fosfatases no solo, por causa da sua grande biomassa, alta atividade metabólica e curto tempo de vida, com várias gerações por ano, permitindo a produção e a liberação de quantidades elevadas de enzimas extracelulares em comparação com as plantas.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar alterações das atividades das fosfatases ácidas e alcalinas a partir da influencia de fertilizantes organominerais enriquecidos com microrganismos solubilizadores de P em solos cultivados com milho.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em campo experimental na Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas/MG, com o híbrido de milho BRS1060. Os tratamentos foram as 10 formulações combinadas de fertilizantes granulados com doses crescentes de P (75, 150, 225, 300 kg.ha<sup>-1</sup>) via superfosfato triplo (ST) ou fosfato de rocha (R), cama de frango (CF) e microrganismos (bactéria B70 + B116). Foram acrescentados dois tratamentos controle, sem adubação fosfatada. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. As parcelas foram constituídas de 4 linhas de 5 m cada, espaçadas de 0,7 m.

Na adubação de plantio foi adicionado 80 kg ha<sup>-1</sup> de FTE BR12, 20 kg ha<sup>-1</sup> de N e 60 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e de cobertura 160 kg ha<sup>-1</sup> de N e 80 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O. O plantio foi realizado em 2014 com parcelas de 4 linhas de 5m cada, espaçadas de 0,7m.

Para avaliação da atividade das enzimas fosfatases foram realizadas duas coletas de solo rizosférico das plantas de milho, aos 30 dias após a emergência e durante o florescimento. As análises para determinação da atividade das fosfatases ácidas e alcalinas foram efetuadas de acordo com o método preconizado por Tabatabai et al. (1994). O

método fundamenta-se na análise da concentração de p-nitrofenol resultante da hidrólise enzimática de p-nitrofenil fosfato. A 0,15g de solo foram adicionados tampão pH 6,5 para análise da fosfatase ácida e tampão pH 11,0 para análise da fosfatase alcalina. Para ambas as enzimas, foram adicionados 0,12mL p-nitrofenil fosfato 0,05M com vigorosa homogeneização e posterior incubação durante 1 hora, com temperatura de 37°C.

Adicionou-se, posteriormente, 0,5 mL da solução de reagentes para calorimetria. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 8000rpm por 5 minutos, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 400nm. A concentração de p-nitrofenol presente em cada amostra foi determinada com base na curva padrão (0;2;5;7,5;10 µg de p-nitrofenol/ml). Os resultados obtidos da atividade das enzimas foram expressos em µg p-nitrofenol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> de solo.

## Análise estatística

Os dados de atividade da fosfatase foram submetidos à análise de variância e, quando ocorreram diferenças significativas (p<0,05), as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando-se o programa Sisvar 5.3 (Ferreira, 2010).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os processos biológicos impactam na dinâmica da distribuição das formas de P no solo e consequentemente na ciclagem deste nutriente (Stewart & Tiessen, 1987).

As enzimas do grupo fosfatase desempenham papel-chave na mineralização e ciclagem de P, catalisando a hidrólise de P e, desta forma, tornando-o disponível para absorção pelas plantas (Tabatabai, 1994; Alef et al., 1995).

A atividade enzimática da fosfatase ácida e alcalina apresentou diferença estatística significativa (P≤0,05) somente na primeira coleta (**Figura 1 e 2**).

A atividade da fosfatase ácida apresentou maiores valores que a fosfatase alcalina NAHAS et al. (1994). Para o desdobramento de coleta na fosfatase ácida e alcalina dentro de cada nível de tratamento, observou-se significância (P≤0,05) apenas para os tratamentos 1, 3, 7, sendo que 4 e 6 somente na alcalina. Pode-se observar que no tratamento 2, com inoculante (CF + R+ B70 + B116 + P75) ocorreu maior atividade enzimática ácida e alcalina comparado com os outros tratamentos. No desdobramento de tratamento, os tratamentos apresentaram significância apenas nos que foram adicionados inoculantes, tratamentos 2, 3, 4. Não foi observada diferença estatística significativa no desdobramento de tratamento e coleta (P≤0,05) nos



tratamentos 8, 9, 10, 11 na atividade enzimática das duas coletas.

### Figuras e Tabelas

Nas tabelas 1 e 2, estão expressos valores das fosfatases em diferentes coletas.

Tratamentos	µg de p-nitrofenol h-1 g-1	µg p-nitrofenol h-1 g-1
P0	9145	7987
CF + R + B70 + B11 6+ P75	10329	7526
CF + R + B70 + B116 + P150	8521	7155
CF + R + B70 + B116 + P225	8550	7003
CF + R + B70 + B116 + P300	6287	6511
CF + R + P150	8253	7647
P0	9157	6579
ST + P75	7272	6124
ST + P150	7332	6846
ST + P225	7739	6522
CF + B70 + B116 + P150	7587	6328
CF + P150	8020	6417

**Tabela 1** – Atividade de fosfatase ácida primeira e segunda coletas e diferentes tratamentos respectivamente.

Tratamentos	µg de p-nitrofenol h-1 g-1	µg p-nitrofenol h-1 g-1
P0	7209	3877
CF + R + B70 + B11 6+ P75	8618	5889
CF + R + B70 + B116 + P150	8219	5271
CF + R + B70 + B116 + P225	7986	5283
CF + R + B70 + B116 + P300	5128	4421
CF + R + P150	7277	4759
P0	8622	4522
ST + P75	5120	4599
ST + P150	5328	5326
ST + P225	6139	5190
CF + B70 + B116 + P150	5969	5128
CF + P150	7332	5594

**Tabela 2** – Atividade de fosfatase alcalina, primeira e segunda coletas e diferentes tratamentos respectivamente.

### CONCLUSÕES

A utilização dos fertilizantes organominerais é capaz de aumentar a taxa de mineralização de P no solo. Constatou-se que, a inoculação de bactérias na rocha pode aumentar a produção de enzimas fosfatase, devido às atividades das fosfatases ácidas e alcalinas terem se diferido dos controles não inoculados.

### AGRADECIMENTOS

A FAPEMIG, CNPq, Embrapa Milho e Sorgo e a UNIFEMM, pela infraestrutura e recursos financeiros para a execução do trabalho.

### REFERÊNCIAS

ALEF, K.; NANNIPIERI, P.; TRAZAR-CEPEDA, C.; Phosphatase activity. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.). Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London: Academic Press, 1995. p. 335-344.

DICK, W.A.; TABATABAI, M.A. Significance and potential uses of soil enzymes. In: METTING JUNIOR, F.B. (Ed.). Soil microbial ecology applications in agricultural and environmental management. New York: M. Dekker, 1993. p.95-127.

FERREIRA, D. F. SISVAR: sistema de análise de variância: versão 5.3. Lavras: UFLA, 2010.

KOHLER, T. A., AND S. VAN DER LEEUW. 2007. Introduction: Historical socionatural systems and models. In The Model-Based Archaeology of Socionatural Systems, ed. T. A. Kohler and S. van der Leeuw, 1–12. Santa Fe: SAR Press.

LAPIDO-LOUREIRO, F. E. (1996): A indústria de fosfatos no Brasil: rumos alternativos para aproveitamento de subprodutos e redução de impactos ambientais. Tema, CETEM.

MADHAIYAN, M., POONGUZHALI, S., LEE, J.-S., SENTHILKUMAR, M., LEE, K. C. & SUNDARAM, S. (2010). Mucilaginibacter gossypii sp. nov. and Mucilaginibacter pineti sp. nov. from pine wood Mucilaginibacter gossypicola sp. nov., plant-growth-promoting bacteria isolated from cotton rhizosphere soils. Int J Syst Evol Microbiol 60, 2451–2457.

NAHAS, E.; CENTURION, J.F.; ASSIS, L.C. Efeito das características químicas dos solos sob os microrganismos solubilizadores de fosfatos e produtores de fosfatases. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v.18, n.1, p.43-48, jan./abr. 1994.

OGBO, F. C. Conversion of cassava wastes for biofertilizer production using phosphate solubilizing fungi. Bioresource Technology, Essex, v.101, p. 4120-4124, 2010.

PROCHNOW, L. I. et al. Greenhouse Evaluation of Phosphorus Sources Produced from a Low-Reactive Brazilian Phosphate Rock. Agronomy Journal, Madison, v. 96, n. 3, p. 761-768, May/June 2004.

STEWART, J. W. B.; TIESSEN, H. Dynamics of soil organic phosphorus. Biogeochemistry, v. 4, p. 41-60, 1987.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W. (Ed.). Methods of soil analysis: Part. 2. Microbial and biochemical properties. Madison: Soil Science Society of America, 1994.

VASSILEV S.V., BAXTER D., ANDERSEN L.K., VASSILEVA C.G. An overview of the chemical composition of biomass. Fuel, 89 (2010), pp. 913–933.

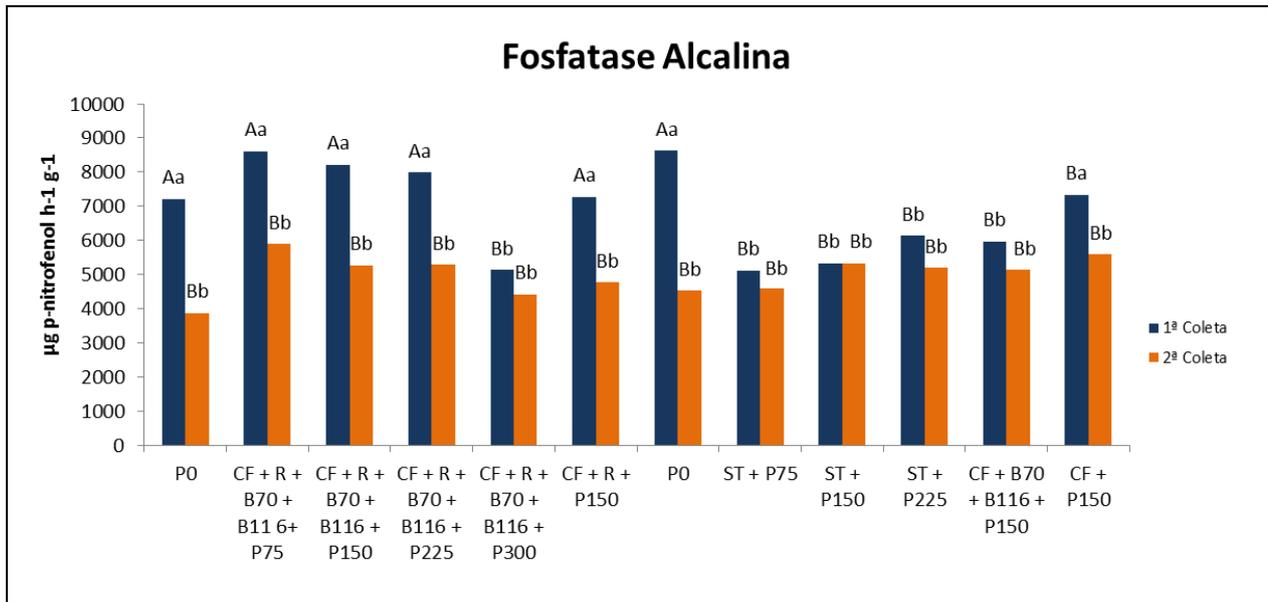


Figura 1 – Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

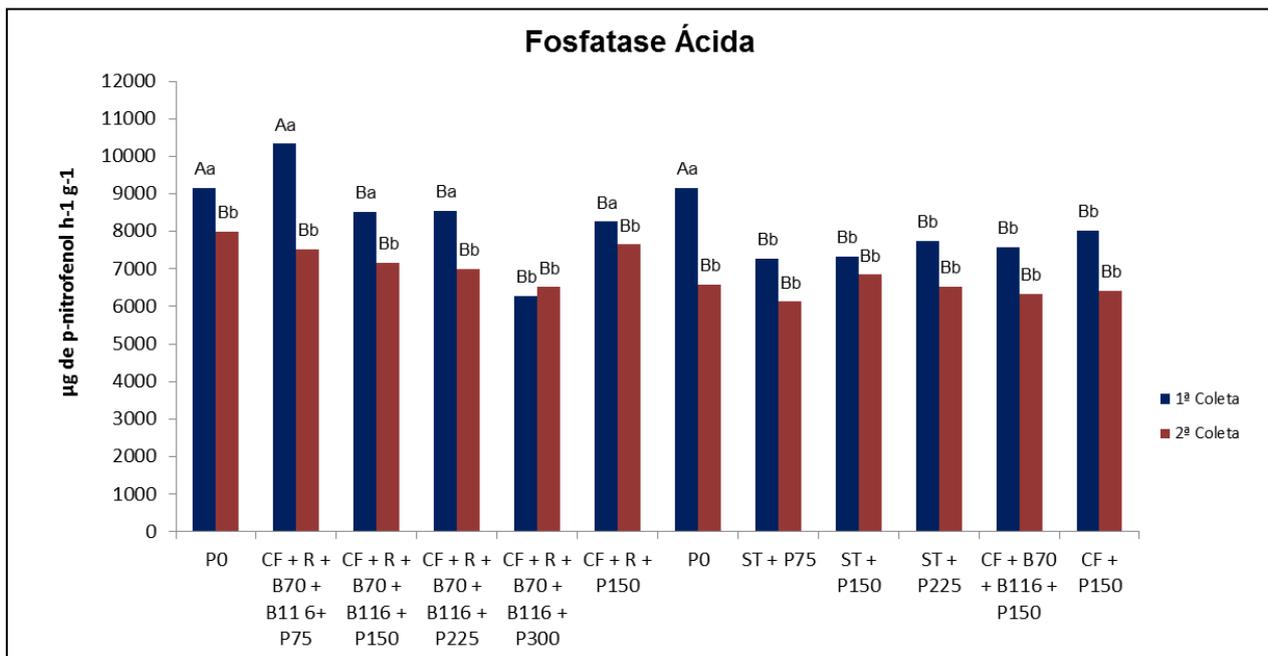


Figura 2 – Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.